UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES
FACULTÉ DE MÉDECINE COCHIN - PORT ROYAL

Année 1974 1975

PARIJS

N° 17

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

Philippe MERSIER

Né le 3 avril 1947 à Versailles (78)

Présentée et soutenue publiquement le

ORIGINE DES NITRATES ET NITRITES ENTRAINANT UNE METHEMOGLOBINEMIE DE L'ENFANT

Président de Thèse : Monsieur G. BLANCHER (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS 6e
1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548103_0029

UNIVERSITÉ RENÉ DESCARTES
FACULTÉ DE MÉDECINE COCHIN - PORT ROYAL

Année 1974 N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

par

Philippe MERSIER
Né le 3 avril 1947 à Versailles (78)

Présentée et soutenue publiquement le

ORIGINE DES NITRATES ET NITRITES ENTRAINANT UNE METHEMOGLOBINEMIE DE L'ENFANT

Président de Thèse : Monsieur G. BLANCHER (Professeur)

DACTYLO-SORBONNE
8, rue Casimir Delavigne
PARIS 6e
1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A ma femme

A ma mère

A mon père

A ma soeur

A Monsieur le Professeur Gabriel BLANCHER

Professeur à la Faculté de Médecine

Qui m'a guidé de ses conseils éclairés
dans l'élaboration de cette thèse et
m'a fait l'honneur d'en accepter la
présidence

A mes maîtres des hôpitaux

Docteur HERZOG

Docteur PERSONNE

Professeur ISRAEL-ASSELIN

Docteur CAMAY

Docteur DENIS

Professeur LEGER

Professeur agrégé CHAPUIS

Professeur JUDET

Docteur CARTIER

Professeur THIEFFRY

Docteur AICARDI

Professeur CACHIN

Professeur agrégé GUERIN

Docteur ISORNI

Docteur SCALI

Docteur IOAN

Docteur AZOULAY

ORIGINE DES NITRATES ET NITRITES

ENTRAINANT UNE METHEMOGLOBINEMIE DE L'ENFANT

-:-

INTRODUCTION

-:-

L'utilisation toujours croissante des composés minéraux de l'azote, en particulier de l'acide nitrique et de ses dérivés minéraux, des nitrites alcalins et de l'ammoniac, amène à se demander si ces produits continuellement ajoutés ne vont pas s'accumuler d'une façon toxique ou changer d'une manière dangereuse certains équilibres biologiques.

Le problème a déjà été rapidement exposé par RONDEST J. (54) qui, à l'aide d'un schéma, décrit le passage de ces dérivés en portant l'accent sur :

- Les principaux produits fournissant un apport important en azote à la nature : engrais, conservation des aliments et accumulation de déchets organiques.

- Les réactions chimiques et biologiques que subissent ces produits pour entrer dans le cycle de la vie : oxydation de l'ammoniac en oxydes d'azote, réduction des nitrates en nitrites et transformation des nitrites en dérivés organiques nitrosés assimilables.

- Les divers points où s'accumulent les dérivés azotés: eaux, plantes et aliments.

Des raisons évidentes poussent à l'utilisation des nitrates et nitrites : les engrais azotés augmentent le rendement des récoltes, en céréales notamment, les nitrites favorisent la conservation des aliments, évitant, semble-t-il, en particulier, le botulisme.

Mais ces additifs qui ont l'inconvénient d'augmenter la teneur en nitrates et en nitrites de notre environnement (eau, aliments ...) accroissent en proportion l'incidence des methémoglobinémies, affection frappant surtout le nourrisson et le très jeune enfant Ils favorisent aussi la formation de

nitrosamines, carcinogènes puissants, mais en raison du caractère exclusivement expérimental des connaissances sur ces derniers corps, notre étude n'approfondit pas ce problème. Il s'agit simplement d'une mise au point sur l'origine des nitrates et des nitrites entraînant une méthémoglobinémie chez l'enfant. C'est pourquoi dans un premier chapitre sont rapportées les observations récentes de méthémoglobinémies, toxiques par les nitrites et leur analyse (diagnostic, enquêtes hygiéniques et agronomiques). Dans le deuxième chapitre, est exposée l'étude systématique des sources possibles de nitrates et de nitrites et les moyens éventuels de prévention.

-:-

I - LES CAS RECENTS DE METHEMOGLOBINEMIE DE L'ENFANT

-:-

La peur d'une intoxication par les nitrates contenus dans des légumes couramment ingérés a fait l'objet d'une mise au point en 1970 (46). L'intérêt a été stimulé par la survenue de méthémoglobinémies chez des enfants allemands et français après consommation de purée d'épinards ou de soupe de carottes. On connaissait déjà les intoxications par l'eau contenant des nitrates.

I-1 Méthémoglobinémie par jus de carottes

Dans le cas suivant, publié le 19 avril 1973 (KEATING, 34) la cyanose s'est développée après ingestion de jus de carottes, frais chez un jeune américain. Il s'agit d'un jus et non pas d'une soupe, la carotte étant volontiers utilisée, comme bien d'autres légumes et fruits pour la saveur de son jus et non dans un but antidiarrhéique, aux Etats-Unis.

Observation

Un enfant noir, de sexe masculin, âgé de 2 semaines, fut amené aux urgences, car sa grand-mère avait remarqué "une coloration sombre" des lèvres et du lit unguéal. Au cours des 24 heures précédentes, l'enfant avait bu 50 ml de jus de carottes. L'interrogatoire de l'entourage éliminait l'existence de fièvre, de diarrhée ainsi que la prise de tout médicament.

L'enfant avait quitté la maternité avec une préparation de lait modifié comportant des vitamines et des éléments minéraux (Similac®). La prise de poids avait été régulière jusqu'au deux jours précédant son admission. Son frère jumeau, qui avait reçu le même lait mais pas de jus de carotte, ne présentait aucun symptôme et enfin il n'existait aucun antécédent familial d'affection hématologique.

L'examen clinique montrait un nourrisson bien éveillé, irritable avec une cyanose des ongles et des lèvres. Le poids était de 3,200 kg, et le périmètre crânien de 35,5 cm, le rythme respiratoire de 40 c/mn, le pouls à 190 c/mn, la température à 36,6°. La tension artérielle (méthode de DOPPLER) était à 80/60 au membre supérieur et à 75/40 au membre inférieur.

Un souffle systolique à 3/6 était audible le long du bord gauche du sternum et sur le précordium.

- Le cliché radiographique pris à l'admission montrait une discrète augmentation de la trame pulmonaire sans cardiomégalie.

L'électrocardiogramme indiquait une déviation axiale droite de +180° et une hypertrophie ventriculaire droite.

Le sang artériel prélevé, alors que le patient respirait l'air de la pièce présentait un pH à 7,49.

Une pression partielle en oxygène à 95 et en CO_2 à 35,5 mm de Hg.

Les autres examens de labotatoire révélaient un taux d'hémoglobine à 14,4 g/100 ml, un hématocrite à 47 %, une sérologie vénérienne négative, une calcémie à 9,2 mg pour 100 ml, et un ionogramme sanguin :

Na^+ = 137,0 mEq/l Cl^- = 114 mEq/l

K^+ = 4,1 mEq/l HCO_3^- = 13,9 mEq/l

Une seule injection de produit de contraste, administrée par un cathéter monté dans les cavités droites du coeur révéla une petite lacune du septum atrial.

Le dosage de la méthémoglobinémie * s'élevait à 9 g pour 100 ml, soit environ 60 % de l'hémoglobine totale (le taux normal, maximum du nourrisson est en principe de 2 %).

---

* Méthémoglobine = MHb ou MetHb.

Le bleu de méthylène, à la dose de 1 mg par kg, par voie intraveineuse, fit disparaître rapidement la teinte cyanique du patient. Les dosages suivants de MetHb, à la 1ère et 12e heure après traitement étaient respectivement de 0,9 et 0 g. pour 100 ml.

L'enfant resta en bon état pendant tout son séjour à l'hôpital.

Les cultures faites sur une aspiration gastrique ont permis la croissance banale de quelques colonies de candida albicans ainsi que celles de streptocoques et de neisseria, peu nombreuses. Le pH de l'aspiration gastrique était de 5,0. L'électrophorèse de l'Hb montrait 33 pour cent d'hémoglobine foetale.

Les examens ultérieurs des deux jumeaux, l'enfant malade et son frère, à plusieurs occasions, en consultation externe, n'ont montré aucun problème de santé d'aucune sorte.

Au total le diagnostic de méthémoglobinémie confirmé par le dosage spectrophotométrique ne fait aucun doute. Cette affection est responsable à elle seule de la cyanose, comme en témoigne son apparition soudaine et sa disparition par le traitement spécifique (bleu de méthylène). En aucun cas la communication inter auriculo-ventriculaire, fortuite, ne peut en être tenue pour responsable. Cette affection, peu cyanogène en général, est par trop minime dans ce cas ; le diagnostic étiologique s'est orienté vers le jus de carotte, qui distinguait le régime alimentaire de l'un des jumeaux par rapport à l'autre.

Investigations épidémiologiques

Le domicile du patient fut visité à trois reprises, la famille, interrogée et les locaux inspectés avec une attention particulière aux sources possibles de nitrates ou nitrites (interruptions de réfrigération, changement dans l'approvisionnement d'eau, etc...). Le super marché, où les carottes suspectes avaient été achetées, a été visité avec le membre de la famille qui en avait fait l'achat. Des précisions sur l'envoi, sur l'entreposage et sur l'origine furent obtenues en interrogeant le gérant du marché, l'expéditeur de l'entrepôt de distribution régional et l'expéditeur du point d'origine en Floride.

Les modalités de réfrigération du camion et de l'entrepôt ont été examinées. Les conditions de croissance (type de sol, quantités de fertilisant, chutes de pluie, ensoleillement et température durant la saison de croissance des légumes) et les méthodes de récolte, lavage, triage, furent passées en revue par téléphone et correspondance avec le cultivateur, avec l'expéditeur, avec une station régionale de recherche agricole et enfin avec le National Oceanic and Atmospheric Administration (Department of commerce). Des carottes et des aliments à base de carottes furent achetés à de nombreux détaillants dans la région de St.Louis pendant le mois de juin 72. Le mode de distribution des carottes dans la région de St.Louis fut connu par l'interrogatoire des étalagistes de la ville de St.Louis.

Les carottes suspectes ont poussé dans une zone de tourbe des Everglades qui n'a pas reçu de fertilisant contenant de l'azote. Des conditions climatiques, il apparaît que les chutes de pluie ont prédominé pendant les six dernières semaines de pousse. Les carottes furent mécaniquement récoltées; nettoyées et triées 14 jours avant consommation. Aucun procédé de coloration ou de préservation ne fut employé. Une réfrigération de 4 à 10°C fut maintenue durant le transport et le stockage dans l'entrepôt régional. Les carottes furent placées dans un bac frigorifique d'étalage au marché. Mais la température réellement maintenue pendant les 3 à 5 jours (Memorial Day Week end) ne peut être affirmée, la hauteur de l'empilement étant inconnue (éloignement de l'élément réfrigérant). L'air conditionné du grand magasin fut éteint pendant ce long week-end.

Analyse des carottes

Toutes les carottes furent stockées à -40°C. Avant analyse les carottes furent lavées avec de l'eau distillée, et les parties feuillues furent coupées et jetées. Le jus fut extrait au moyen d'un appareil centrifuge (Atlas), et une partie de celui-ci analysé, à la recherche de nitrate, de nitrite et d'ammonium, selon la méthode de BREMNER et GOLDERMAN. Le jus restant fut conservé à -40°C. La méthémoglobine fut déterminée par la méthode décrite par EVELYN and MALLOY, modifiée.

Résultats

Le jus de carottes donné à l'enfant avait été préparé dans les deux heures qui suivirent l'achat. Les parties feuillues furent enlevées au conteau et les carottes furent lavées au robinet de la cuisine. Le jus, non immédiatement consommé, fut gardé dans un flacon propre en verre, au réfrigérateur (température 5°C). Lors des repas suivants, le jus fut versé de ce récipient dans un biberon ébouillanté au préalable. Le reste du biberon, à la fin de chaque repas était jeté. La grand-mère a goût le jus et trouvé qu'il avait une odeur et un goût normaux. Le jus restant, vérifié 48 heures après sa préparation, contenait de grandes quantités à la fois de nitrates et nitrites, l'eau du robinet de la cuisine, avant et après passage dans le "presse-légume" en contenait peu ; l'analyse des carottes, achetées ultérieurement, mais considérées comme de la même marque (venues de Floride) que celle utilisée par la famille, révéla de grandes quantités de nitrates et de nitrites, alors que les carottes achetées en même temps, au même étalage mais provenant de Californie contenaient beaucoup moins de nitrates et des traces négligeables de nitrites. La probabilité que la contamination soit survenue après l'achat, est rendue hautement invraisemblable ; c'est pourquoi le jeune patient ingéra, environ 104 mg de nitrite et 70 mg de nitrate par kg. L'effet toxique peut apparaître à partir de 2,0 mg de nitrite par kg, une telle dose aurait été apportée par l'ingestion d'environ 10 ml de ce jus de carottes.

Résultats des dosages faits au cours de l'investigation épidémiologique :

Produits analysés	Nitrates en p.p.m.	Nitrites en p.p.m.
Jus de carottes donné à l'enfant	525	775
Similac* préparé à l'eau du robinet	2,0	0,2
Carottes achetées au marché		
provenant de Floride	265	270
provenant de Californie	22	0,2
Carottes de Floride cultivées		
sans engrais	71,8 (39-108)	0,2
sur engrais organique	320 (220-405)	0,2

Interprétation -

La réduction des nitrates, en nitrites responsables de la méthémoglobinémie de cet enfant est survenue dans la plante, après la récolte et avant la préparation sans qu'aucune contamination bactérienne bien définie ait pu être mise en évidence. Une telle réduction pourrait être provoquée par la présence éventuelle de réductase de la plante et par sa forte teneur en nitrate. On voit sur le tableau des dosages, que la teneur en nitrates naturellement élevée dans les carottes de Floride est considérablement accrue avec l'emploi d'amendements organiques.

I-2 Méthémoglobinémie par soupe de carottes

Les cas Français de méthémoglobinémie infantile par la carotte posent un difficile problème diététique en raison de l'usage considérable de ce légume comme antidiarrhéique en France. J. L'HIRONDEL et ses collaborateurs (40) ont publié en octobre 1971, 16 cas de méthémoglobinémies liées à une intoxication par la soupe de carottes. DUPEYRON et ses collaborateurs (16), ayant donné à des nourrissons diarrhéiques de la soupe de carottes attestent (1970) la survenue chez certains d'une méthémoglobinémie. Les deux observations exemplaires rapportées ci-dessous sont respectivement empruntées à R. VILLEY (77) et à J. L'HIRONDEL et ses collaborateurs (40).

1ère OBSERVATION

"Eric, âgé de 4 semaines, est adressé à l'hôpital de Caen le 30.1.1968 pour une cyanose intense d'apparition brutale. Depuis la veille il avait de la diarrhée et recevait de la soupe de carottes. A son entrée, la cyanose est intense, téguments et muqueuses ont une teinte ardoisée foncée. L'état général cependant est conservé. Le sang prélevé est de couleur chocolat et le taux MHb* est de 50 %. Les signes d'intoxication disparaissant rapidement, l'enfant ne reçoit que de la vitamine C et est mis au régime de soupe de carottes à l'hôpital. L'interrogatoire de la mère ne retrouve aucune cause toxique exogène (pas de médicament, ni produits industriels, colorants en particulier). Les recherches faites sur la soupe de carottes de la mère révèlent la présence de nitrates en grande quantité et l'absence de nitrites et de chlorates. Dans l'eau de ville ayant servi à la cuisson, ces mêmes recherches sont négatives. La coproculture révèle un colibacille et les auteurs concluent à la transformation des nitrates en nitrites, dans l'intestin, par les colibacilles".

---

* MHb = MetHb = méthémoglobine.

2ème OBSERVATION

Edwige, un mois et demi, entrait le 20 novembre 1970 à l'hôpital de Caen pour apparition rapide d'une cyanose modérée, sans altération notable de l'état général. Elle avait reçu depuis cinq jours de la soupe de carottes, pour des "vomissements". La méthémoglobinémie s'élevait à 10 % (seulement) et l'enfant fut traité par le bleu de méthylène. La pratique d'une coproculture ou d'une culture de liquide gastrique n'est pas mentionnée mais le pH de celui-ci a été vérifié et trouvé voisin de la neutralité (pH à 6). Enfin la soupe en cause avait été préparée depuis la veille et conservée hors du réfrigérateur. L'analyse chimique y révéla 142,5 mg/l de nitrites et l'analyse bactériologique 3,8 x 106 bactéries (/ml). Une soupe fraîche, préparée à la demande des auteurs, par la mère de l'enfant, contenait 220 mg/l de nitrates et pas de nitrites. Après conservation pendant 48 heures à température ambiante (20°) la totalité des nitrates ont été transformés en nitrites et il existait une prolifération microbienne intense.

Dans ces 2 observations les auteurs ont constaté un taux élevé de nitrates dans les carottes à l'origine des méthémoglobinémies, mais il apparaît que la transformation des nitrates en nitrites est secondaire à une réduction bactérienne,

- endogène dans le premier cas par prolifération de germes dans le tube digestif
- exogène dans le deuxième cas par contamination survenant surtout au cours de la préparation ou de la conservation de la soupe

Déjà, dans sa thèse présidée par J. L'HIRONDEL en 1970 N. SIGNORET présentait 12 observations, dont le mécanisme de toxicité des nitrates était le même que celui des deux observations précédentes. Il s'agissait d'une douzaine d'enfants (9 garçons pour 3 filles, cette prédominance masculine n'est pas retrouvée dans la littérature), de 15 jours à 4 mois 27 jours d'âge, souffrant pour la plupart de troubles digestifs (diarrhée, selles simplement molles et même vomissements dans un cas). Les coprocultures étaient positives à des germes susceptibles de transformer les nitrates en nitrites. Cette épidémie de méthémoglobinémie a conduit à demander une enquête agronomique : le taux de nitrate contenu dans les carottes de la Manche est très variable : 128 à 1000 mg NO_3 par kg, alors que la teneur en nitrite est relativement fixe 0,9 à 2,1 mg. La teneur en nitrate est liée à l'emploi d'engrais azotés.

A ces observations typiques, il faut ajouter le très récent cas de méthémoglobinémie, rapporté par Y. CASTEL et ses collaborateurs qui suppose un enrichissement inattendu en nitrates des carottes (5).

3e OBSERVATION

"Claude B ..., né le 28 octobre 1971, entre dans le service de Pédiatrie du CHR de Brest le 20 novembre 1971, à l'âge de trois semaines, adressé par les Docteurs LEMOINE et DARIDON, pour suspicion de méthémoglobinémie.

ANTECEDENTS -

- Mère : 24 ans ; père : 25 ans, en bonne santé, non consanguins.

- 1 soeur en bonne santé
- pas de maladie familiale connue
- grossesse normale
- accouchement normal, par le sommet, à terme
- premier cri immédiat
- poids de naissance : 3,780 kg

Durant les trois premières semaines : pas de problème. Allaitement artificiel au lait Nido*.

MALADIE ACTUELLE -

Le 17 novembre 1971, lors de la visite systématique du premier mois (Dr LEMOINE) : l'enfant va bien, mais la mère signale une tendance à la diarrhée ; sans arrêter le lait, le médecin conseille alors l'adjonction au régime de soupe de carottes.

Le 19 novembre, le Dr LEMOINE est à nouveau consulté pour une hyperthermie à 38° et l'apparition d'une discrète cyanose.

A l'examen : pas de tirage, pas de râles broncho-pulmonaires, pas de souffle cardiaque, gorge un peu rouge, tympan droit congestif.

L'enfant est alors mis sous Sigmamycine*.

Le 20 novembre au matin : apparition de vomissements, température à 36,5° cyanose moins intense, pas de gêne respiratoire, tympan droit rouge et bombant.

Une paracentèse est pratiquée : issue de sang.
L'ORL est alors frappé par la couleur sombre du sang.

Le Docteur DARIDON, alors consulté, évoque l'hypothèse d'une méthémoglobinémie et conseille l'hospitalisation.

A l'ENTREE DANS LE SERVICE (20 novembre 1971, à 17 heures)

- Enfant gris, devenant franchement cyanosé lors des cris.
- Température à 36,5°
- Poids : 4 745 g
- Taille : 55 cm
- Périmètre crânien : 40 cm.

Examen cardio-vasculaire

Auscultation cardiaque normale ; pas de souffle. Pouls fémoraux bien perçus : pas d'oedèmes.

Examen pulmonaire

Pas de tirage, auscultation et percussion pulmonaires normales.

Examen neurologique

- Bon cri
- Attitude et motilité spontanées normales
- Réflexes archaïques tous présents
- Tonus des membres symétrique
- Bon tonus axial
- Examen des yeux normal
- Fontanelle normale

Le reste de l'examen n'a pas permis de faire de constatation bien particulière".

Au total, il s'agit d'un enfant de trois semaines, sans antécédent particulier, ayant une diarrhée, traitée par régime à la soupe de carottes, et une cyanose d'apparition récente, sans signe clinique d'atteinte cardiaque ni pulmonaire, avec coloration rouge sombre du sang et bonne conservation de l'état général.

La radiographie du thorax confirme l'intégrité du coeur et des poumons.

Les "gaz du sang" artériel donnent un pH à 7,35, une PCO_2 à 50 et surtout un effondrement de la (PO_2) pression partielle en oxygène à 27 mm Hg. Rien n'est précisé quant à la saturation en oxygène du sang artériel ; le dosage spectrophotométrique de la méthémoglobine n'a pu être pratiqué. Toutefois le diagnostic ne semble pas faire de doute, comme le confirme la régression des symptômes sous traitement spécifique.

TRAITEMENT

- Injection i.v. directe de vitamine C : 0,50 g toutes les 3 heures, puis toutes les 6 heures, jusqu'à un total de 4 g en 36 heures.

- Oxygénothérapie sous cloche (5 l/mn)
- Perfusion i.v. : sérum glucosé + électrolytes

"Une amélioration progressive de l'enfant sous ce traitement est rapidement notée, et dès la 24e heure, il ne se cyanose plus du tout, même sans oxygène.

Les autres examens montrent les résultats suivants :

- Hémogramme : GR : 5 030 000. GB : 14 600 dont 24 p.cent de polynucléaires neutrophiles. Hémoglobine : 14,6 g. Eosinophiles : 5 p.cent. Lymphocytes : 70 p.cent.

- Taux de réticulocytes : 1,7 p.cent.

- Résistance globulaire : hémolyse initiale : 4,5 g/1000 de NaCl ; hémolyse totale : 3 g/1000 de NaCl.

- Ionogramme plasmatique normal.
- Protides totaux : 50 g/l dont 52 p.cent d'albumine
- Coproculture : présence de staphylocoque pathogène.

Par la suite, cet enfant a reçu : 2 fois par jour 0,50 g de vitamine C pendant une semaine.

Depuis lors, pas de nouvelle crise.

L'enquête étiologique a permis de réunir les éléments suivants :

- L'analyse de l'eau avant servi à la préparation des biberons a montré l'absence de nitrites et nitrates dans celle-ci.

Par contre, deux éléments importants sont à noter :

- Les carottes utilisées avaient été transportées dans des sacs en matière plastique ayant préalablement contenu des engrais à base de nitrate. Les cultivateurs de la région ont l'habitude de stocker leurs carottes dans ces sacs qui ont l'avantage d'être très résistants.

- La soupe de carottes avait été préparée d'avance et conservée pendant 24 heures dans un placard à une température de 10° environ et non pas au réfrigérateur".

En conclusion, on peut incriminer la soupe de carottes dans la génèse de cette méthémoglobinémie. Il n'est pas possible de préciser si la réduction des nitrates en nitrites a lieu dans le tube digestif (diarrhée fébrile), ou comme dans les cas précédents dans la soupe elle-même, ce qui paraît le plus vraisemblable en raison des conditions de conservations défectueuses, ou enfin avant la préparation, dans les carottes elles-mêmes. Cette dernière hypothèse mérite d'être retenue car le transport et le stockage des carottes dans des solides sacs en matière plastique non aérés ayant contenu des engrais nitratés est susceptible d'enrichir celles-ci en nitrates, et même par l'altération des carottes (fermentation, putréfaction) d'accélérer la transformation des nitrates en nitrites toxiques.

I-3 Méthémoglobinémie par les épinards

Outre-Rhin, les épinards ont été, souvent, mis en cause dans les méthémoglobinémies du nourrisson. Il est intéressant de rapporter dans leur intégralité les deux observations princeps de HOLSCHER et NATZSCHKA (29) qui ont été suivies de nombreux travaux tant cliniques, que biologiques ou agronomiques, précisant le rôle des nitrates.

1ère OBSERVATION

Thomas A ..., âgé de 3 mois et demi, nourrisson bien portant qui jusqu'alors avait été nourri au lait avec prise de poids régulière, a reçu le 9.5.63 aux environs de midi une bouillie préparée avec des épinards frais. Deux heures plus tard l'enfant vomissait son repas de midi. La mère remarqua alors qu'il avait une coloration bleue intense. Elle le conduisit aussitôt chez le médecin traitant qui nous l'adressa. A son admission vers 17 heures la cyanose avait déjà presque disparu, aux dires de la mère. Malgré cela il persistait une couleur bleue inquiétante, particulière, gris-ardoise. De plus son état général était paradoxalement bon. La respiration était un peu accélérée, mais non gênée. Il n'y avait pas d'altération de la conscience. L'examen clinique ainsi que la radiographie du thorax et l'électrocardiogramme ne donnèrent aucun signe en faveur d'une affection cardiaque ou pulmonaire. Soupçonnant une méthémoglobinémie, nous avons prélevé un peu de sang qui apparut nettement brun par rapport au sang témoin. Pour des raisons techniques le dosage de la méthémoglobine ne fut pas exécuté.

Par l'interrogatoire de la mère, on a pu savoir que l'enfant n'avait reçu aucun médicament les jours précédents ; comme nous avions établi une relation entre le dernier repas et l'empoisonnement nous avons pratiqué un lavage d'estomac. En outre nous avons donné à l'enfant de la vitamine C à hautes doses. Le soir même la cyanose avait complètement disparu ; le lendemain l'enfant à nouveau rose, pouvait retourner chez lui.

2e OBSERVATION

Franck A ... nourrisson âgé de 2 mois, pesant 5,4 kg a reçu le 15.5.63 pour la première fois une bouillie préparée avec des épinards frais, qu'il toléra bien. La mère mit une 2e portion au réfrigérateur pour la nuit ; elle la donna à l'enfant le lendemain vers 14 heures. 45 minutes après elle remarqua une cyanose survenue brusquement chez l'enfant. C'est pourquoi elle appela le médecin traitant qui nous l'adressa. A l'admission vers 16 heures, le garçon présentait une couleur intense gris-bleue et une dyspnée modérée ; il criait encore vigoureusement. Au bout d'une heure son état général se dégradait de façon importante. La cyanose empira et la respiration s'accéléra et devint difficile pour conduire à un tableau de collapsus avec tachycardie suivi d'un coma avec état convulsif. Une mydriase presque areflexique s'installa. Nous avons pu éliminer une affection pulmonaire ou cardiaque. Le sang de l'enfant avait la coloration brun chocolat caractéristique de la MetHb . 55 % de l'hémoglobine (dont le taux s'élevait à 12,5 g/100 ml) était de la MetHb*. En raison de la gravité de cet empoisonnement aigu, nous injectâmes au nourrisson par voie intraveineuse 8 mg/kg de bleu de méthylène et de plus nous lui fîmes un lavage d'estomac. En moins d'une heure on pouvait observer une nette amélioration ; la cyanose avait régressé, et la respiration s'était normalisée ; la somnolence disparaissait. Au 2e jour le taux de méthémoglobine s'élevait encore à 1,4 % du pigment sanguin. Une hémolyse n'est pas apparue évidente, le taux d'hémoglobine étant resté constant les jours suivants. Sur lame on ne retrouva pas d'inclusion. La résistance osmotique des hématies était quelque peu abaissée 4 jours après l'intoxication (début d'hémolyse à 0,7 % de Na Cl, hémolyse complète à 0,24 % Na Cl), dans les normes 2 jours plus tard. L'estimation de l'Hb** foetale*** donne 34 % de l'hémoglobine totale. Après une hospitalisation de 5 jours le garçon put être renvoyé à son domicile.

On peut noter dans les deux cas la précocité et l'intensité des symptômes. Aucun nourrisson, jusque là bien portant, n'avait reçu de médicaments. Ils n'avaient pas non plus été en contact avec de l'aniline ou tout autre produit méthémoglobinisant. L'enquête révélait l'emploi d'eau de canalisation pour la préparation de la nourriture au lieu d'eau de source. Les mères des 2 enfants avaient acheté des épinards

---

* MetHb = MHb = méthémoglobine

** Hb = hémoglobine

*** HbF = Hb foetale = hémoglobine foetale.

frais d'un marché de Berlin-Charlottenburg. A la demande des auteurs la mère du 2e enfant, 2 jours après l'accident, prépara une nouvelle purée d'épinards, qu'elle acheta, elle-même, pour les analyser. Elle les choisit dans la même boutique et au même étalage. Les analyses montrèrent 218 mg d'ion nitrite dans 100 g d'épinards frais, l'eau de rinçage en contenait 48 mg et les épinards cuits sans l'eau de cuisson 170 mg. Les plus forts taux étaient contenus dans l'eau de cuisson. Même après élimination de l'eau il persistait encore 52 mg de nitrites dans ces légumes ; les nitrates ne furent trouvés qu'à l'état de traces. Les épinards n'étaient pas mélangés à d'autres plantes et ne contenaient pas de branches vieillies donc altérées. Ils semblaient être de bonne qualité. D'autres épinards testés ne présentaient pas de nitrites. Le liquide de lavage gastrique des deux enfants présentait également des nitrites (0,126 mg de $Na\,NO_3$ pour 30 ml).

L'enquête a permis d'identifier les épinards en cause, de préciser leur origine, le mode de culture etc.. Il semble que les épinards accumulent intensément les nitrates sans toujours pouvoir les métaboliser (conditions climatiques). L'adjonction d'engrais azotés élève encore le taux de nitrates. Ceux-ci sont réduits accidentellement en nitrites dans la plante elle-même par une réductase comme c'est le cas ici, où le taux de nitrites est élevé avec effondrement de celui des nitrates, en l'absence de toutes altérations des légumes avec prolifération bactérienne. La réduction des nitrates en nitrites explique bien la précocité et l'intensité des symptômes cependant l'absence d'accident méthémoglobinémique après le 1er repas de la deuxième observation d'intoxication par les épinards laisse penser que la transformation des nitrates dans la plante était partielle ou nulle et qu'elle a eu lieu au cours de la conservation. Elle pourrait être due à une contamination microbienne avec prolifération pendant la préparation ou la conservation de la purée.

En conclusion, la présence en abondance de nitrites dans la purée d'épinards est responsable de la méthémoglobinémie. La formation de nitrites survient sous l'effet d'enzymes réducteurs dans la plante quand les teneurs en nitrates des épinards sont élevées naturellement ou par excès d'amendements. Comme dans les observations précédentes les conditions de transport, de préparation et de conservation de cet aliment influencent de façon notable la réduction des nitrates.

I-4 Méthémoglobinémie par eau de canalisation urbaine

On connaît depuis longtemps (COMLY - USA - 1945 - réf.9) les méthémoglobinémies succédant à l'ingestion d'eau de puits à forte teneur en nitrates. Il s'agit le plus souvent de puits peu profonds, situés dans les zones agricoles et les accidents surviennent chez des enfants diarrhéiques, porteur d'une population de germes califormes dans la partie supérieure du tube digestif. L'intoxication par les nitrites et les nitrates de l'eau de canalisation urbaine est un peu plus récente (VIGIL aux USA - réf. 76, SIMON en Allemagne - réf. 63 , VERGER en France, réf. 74) et l'on a vu dans les observations précédentes que cette étiologie avait toujours été recherchée puis éliminée, l'eau ayant servi à la préparation des aliments étant dépourvue de nitrates et de nitrites. Par contre dans les observations suivantes le rôle de l'eau de canalisations urbaines apparaît primordial. AUSSANAIRE et ses collaborateurs (1) en rapportent neuf cas.

En octobre 1964 un établissement de la région parisienne adresse à l'hôpital Saint Vincent de Paul un nourrisson de 34 jours, de sexe féminin puis un deuxième de 35 jours et du même sexe, 4 jours après et enfin deux nourrissons masculins, respectivement de 64 et 54 jours, huit jours après le premier accident. Dans chaque cas il s'agissait d'une cyanose isolée d'apparition récente, remarquablement intense pour le dernier enfant dont le taux de MetHb s'élevait à 38 % le premier jour. Le diagnostic de méthémoglobinémie acquise fut facilement établi pour les quatre enfants, sur l'absence de pneumopathie ou de cardiopathie, sur la couleur du sang, brun chocolat, au prélèvement capillaire et sur le dosage spectrophotométrique ; toutefois le diagnostic de l'agent causal s'est avéré beaucoup plus difficile:

"Le très jeune âge des malades permet d'écarter la possibilité d'une intoxication accidentelle du fait de l'enfant. Un interrogatoire minutieux a permis d'éliminer une intoxication médicamenteuse, par des sulfamides, le nitrofurane, le sous-nitrate de bismuth, ou par des suppositoires de benzocaïne.

Tous les enfants étant venus du même établissement de la région parisienne, nous avons cherché s'il existait un point commun à toutes ces observations. Les couches de ces enfants ne sont pas marquées ; en effet, il a été rapporté des cas de méthémoglobinémie secondaires au passage à travers la peau de traces d'aniline servant à marquer les couches. FISH a relaté

plusieurs cas dûs à l'usage du TCC (trichlorcarbanilide) dans le rinçage des couches. Ce produit n'est pas employé en France".

Sur le plan alimentaire aucun de ces enfants ne recevait d'épinard mais tous avaient reçu dans les jours précédents leur hospitalisation de la soupe de carotte pour diarrhée, "préparée de façon domestique". Les analyses faites au laboratoire du Professeur GAULTIER de divers échantillons et de biberons n'ont pas permis de mettre en évidence l'agent toxique responsable. On pourrait être tenté de conclure qu'il s'agissait de quatre méthémoglobinémies typiques par la soupe de carotte comme l'avaient fait les auteurs : "Nous avons alors supposé que les accidents observés pouvaient être sous la dépendance d'un apport d'engrais par des carottes insuffisamment lavées lors de la fabrication de la soupe". Mais, alors que pendant deux ans aucun nouveau cas n'a été observé et que les habitudes de l'établissement n'ont pas changé, deux nouveaux cas surviennent, le 16 janvier 74 : Il s'agissait de deux nourrissons l'un de 19 jours, de sexe féminin, l'autre de 38 jours, de sexe masculin, placés toujours dans le même établissement, tous les deux. Le même jour, ils présentent une cyanose isolée d'apparition brutale discrète pour le premier, mais généralisée pour le deuxième, et ayant imposé leur transfert en milieu spécialisé. Les deux enfants recevaient de la soupe de carottes ; ils n'étaient pas diarrhéiques. Les taux de MetHbémie* s'élevaient respectivement à 14,4 et 25 % le premier jour et les deux enfants furent traités par le bleu de méthylène et l'acide ascorbique avec succès - L'eau de canalisation fut alors étudiée le 21 janvier 1967, au cours de l'enquête étiologique. Elle présentait un taux de 4 mg/l de nitrites (la tolérance maximale est de 0,100 mg/l). Les dosages effectués par les autorités sanitaires ont montré aussi des taux excessifs en nitrates de 35 et 40 mg/l (la teneur supérieure maxima conscillée selon la circulaire ministérielle du 15 mars 1962 étant de 10 mg par litre).

Dès lors la soupe de carottes qui était faite à l'eau bouillie (l'ébullition, en outre, concentre la teneur en nitrites et en nitrates) a été préparée exclusivement avec de l'eau minérale. Cependant en mars, puis en avril de la même année deux nouveaux cas, venant du même établissement ont été observés : Il s'agissait de deux nourrissons de sexe masculin de 38 et 22 jours ayant subitement présenté une cyanose généralisée d'intensité modérée avec tachycardie. Seul le premier souf-

---

* MetHbémie = MHbémie = méthémoglobinémie.

frait de vomissements et diarrhées mais ils recevaient tous les deux de la soupe de carotte. Le dosage de la méthémoglobine donnait respectivement pour le premier 23 % avant traitement et 0 % le 4e jour et pour le second 22 % le premier jour et encore 3,8 % au 3e jour après 2 jours de traitement bien adapté. L'interrogatoire des mères qui vivent avec leurs enfants dans l'établissement a montré qu'il existait, la nuit, des apports clandestins de biberons d'eau sucrée, préparés à l'eau du robinet.

Les mesures interdisant l'usage de l'eau du robinet chez tous les nouveau-nés de l'établissement ont alors été renforcées. Cependant le 2 février 68 un neuvième cas venait s'ajouter au précédent :

L'enfant âgé de 33 jours, provenant toujours du même établissement, a été hospitalisé à l'occasion d'une cyanose généralisée d'apparition récente sans altération de l'état général importante, mais avec tout de même, une tachycardie notable et un tirage. Une affection cardiaque ou respiratoire a été éliminée sans peine et les examens biologiques ont affirmé une méthémoglobinémie à 25 % le 1er jour, ainsi qu'une légère déglobulisation par hémolyse (en rapport avec la fragilité des hématies porteuses de méthémoglobine). Le taux des réticulocytes était de 3,5 %. Cet enfant recevait depuis quelques jours de la soupe de carottes pour une diarrhée. La cyanose disparaissait après injection de 0,50 g d'acide ascorbique, intra-veineuse le premier jour complété par la même dose orale le 2e jour. L'enquête étiologique a permis d'exclure tous les facteurs toxiques habituels. L'analyse de l'eau de canalisation montrait le lendemain un taux de nitrites convenable à 0,05 mg/l mais un taux élevé de nitrates à 24 mg/l. Ce dernier taux d'allure modeste est important si l'on se souvient que l'ébullition de l'eau concentre les teneurs en nitrates et nitrites, qu'il peut exister des variations quotidiennes de ces taux et que l'enfant présentait une gastro-entérite infectieuse que la plupart des auteurs considère comme facteur aggravant. Mais l'interrogatoire n'a pas permis de savoir si cet enfant avait reçu ou non de l'eau du robinet.

Les auteurs concluent en s'appuyant sur cette dernière observation, qu'un faisceau d'arguments met en cause l'eau de canalisation dans la génèse de ces méthémoglobinémies, mais qu'elle ne peut être tenue de façon certaine pour responsable.

Les deux observations publiées par VERGER et ses collaborateurs en 1966 et rapportées ci-dessous entrent dans le

même cadre (74) :

"la préparation des biberons avec l'eau d'une canalisation urbaine dont la teneur en nitrates devrait être en principe nulle ou négligeable, ne met pas à coup sur le nourrisson de quelques semaines à l'abri de tels accidents ; cette teneur peut par accident s'élever transitoirement de façon dangereuse et approcher ou dépasser le chiffre critique pour la plupart des auteurs de 20 mg/l. Les auteurs rapportent ainsi : 1° l'observation de la jeune Nathalie T ..., domiciliée à Bordeaux, hospitalisée à 27 jours pour une cyanose intense avec torpeur, tendance au collapsus et légère dyspnée, brusquement apparue après quelques jours de diarrhée qui avait motivé un régime exclusif de soupe de carottes depuis 24 heures. Le dosage spectrophotométrique révèle un taux de méthémoglobine de 15 % ; guérison spectaculaire par injection intraveineuse de bleu de méthylène (10 cg) et vitamine C (50 cg). Un premier examen chimique de l'eau de canalisation utilisée pour la préparation des biberons montre un taux élevé de nitrates, à 30 mg°/$_{oo}$ qui s'abaisse par la suite à 6 mg seulement lors d'un second examen ; 2° l'observation de Caroline C ... domiciliée dans la proche banlieue bordelaise, hospitalisée à un mois et demi pour une cyanose intense avec somnolence et tachycardie, brusquement apparue au quatrième jour d'une diarrhée traitée par soupe de carottes. Sang de teinte "chocolat". La spectrophotométrie confirme le diagnostic de méthémoglobinémie. Guérison rapide par bleu de méthylène et acide ascorbique comme dans la première observation. L'eau de la canalisation utilisée pour la préparation des biberons n'a pu être examinée que cinq jours après l'accident. Elle ne contenait à cette date que des traces de nitrates".

L'ingestion d'eau riche en nitrate n'est démontrée que dans un cas. Le rôle de la diarrhée et de la soupe de carottes n'est pas éliminé non plus, dans la survenue de ces deux méthémoglobinémies.

-:-

II - LES SOURCES DES NITRATES ET DES NITRITES

-:-

Les nitrates proviennent, dans l'alimentation humaine principalement de l'eau de boisson et des produits agricoles (DONEEN, 14).

II - 1 EAUX ET SOLS

II.1.1. Eaux de pluie

La contamination de l'eau naturelle se fait d'abord avant d'arriver au sol (BOYER 2). D'après les analyses d'eau de pluie, GEOFFREY I., GLEASON (19), en dosant le nitrate par voie chimique, constatent la présence de nitrates en abondance dans les petites averses. Les chutes plus importantes donnent des eaux moins chargées en nitrates. Les fractions d'eau, en fin de pluie, sont plus pures et ne font que diluer la précipitation de départ en général et non obligatoirement.

En cas d'orage, le pH des eaux est acide et la teneur en ions nitriques élevée, par suite de la formation importante d'oxydes d'azote provenant de l'action des éclairs sur l'atmosphère.

L'acide nitrique n'entre que pour 25 % dans l'acidité totale des eaux de pluie, le reste provient surtout du dégagement de SO_2, des effluents, des centrales thermo-électriques, notamment .

II.1.2. Eaux de ruissellement

L'eau de pluie arrivée au sol provoque un "lessivage" de celui-ci, solubilisant les ions nitriques qui passent alors dans les eaux de ruissellement. Ces nitrates proviennent des matières organiques animales ou humaines détruites par les germes du sol, et des matières végétales formées à partir de l'azote atmosphérique. Des quantités importantes peuvent être

surajoutées par l'épandage de fumier ou de purin et plus encore par l'emploi d'engrais azotés. SARLES, FRAZIER et McCARTER (56) ont étudié la décomposition des composés azotés ; les protéines et les autres substances azotées sont d'abord hydrolysées en amino-acides ou d'autres constituants solubles dans l'eau. Ceux-ci sont consommés par des bactéries qui les dégradent en ammoniaque. La nitrification peut avoir lieu sous l'influence de bactéries nitrosomonas ou nitrosococcus qui, en présence d'air oxydent l'ammoniaque en acide nitreux ; le nitrobacter oxyde alors l'acide nitreux en acide nitrique. Mais si les bactéries sont essentielles dans la transformation de l'azote organique en nitrate, la teneur en nitrate du sol dépend des facteurs influençant leurs activités. Les auteurs remarquent que la nitrification n'a lieu que si :

- le sol contient des substances tampons qui neutralisent l'acide nitrique et maintiennent un pH de 6,5 à 8,0

- les conditions d'aérobioses réalisées par l'agriculture et notamment le labourage se maintiennent

- l'humidité du sol ne dépasse guère la moitié de sa saturation (maximum) en eau

- les sels d'ammoniaque et les autres éléments nutritifs sont présents dans le sol

- la température est comprise entre 50 et 100°F.

Redissous dans les eaux de pluie, d'irrigation ou de ruissellement, les nitrites sont, en général, rapidement oxydés en nitrates et les taux de nitrites sont donc régulièrement bas dans les eaux superficielles (ruissellement, mares.. (53 - WILLIAM E. RIDDER). Cependant une réduction des nitrates en nitrites est possible par des germes aussi banaux que l'Escherichia coli et le bacillus subtillis (62), ceux-ci présents dans les sols, sur les débris végétaux notamment pullulent dans l'eau. Les taux de nitrates des eaux superficielles sont normalement bas, à cause de la dénitrification et de la présence de microorganismes de l'eau qui utilisent les nitrates comme une source nutritive. L'élévation du taux de nitrates des eaux, par le ruissellement mérite toutefois un contrôle systématique par les services d'hygiène, bientôt mis en place aux USA par l'A.P.H.A (American Public Health Association).

Dans le but d'augmenter la précision des dosages de nitrates dans les eaux courantes de nombreuses nouvelles méthodes analytiques ont été mises au point par ces services (A.P.H.A. 1965 (10019) 395-8) (31).

II.1.3. Sols

La contamination des eaux de ruissellement est d'autant plus importante que le sol est plus riche en nitrates et nitrites, soit naturellement, soit par l'adjonction d'engrais azotés (14). Ces engrais provoquent aussi la contamination des eaux souterraines par leurs agents tant minéraux qu'organiques (nitrates, ammoniaque, urée ...) (54). Déjà en 1945 COMLY (9) rapporte un cas de méthémoglobinémie récidivante par l'eau d'un puits familial, contenant 619 mg par litre d'ion NO_3 et en 1951 RICHARD (51) publie 4 cas de méthémoglobinémie par eaux de puits riches en nitrates (183, 58, 110 et 166 mg/l) pauvres en nitrite (0,11 mg/l au plus, néant dans les autres cas) chez des enfants de 10 jours à 1 mois. L'eau ayant été bouillie, il semble que la réduction des nitrates ait eu lieu dans le tube digestif. Les nappes d'eau de ces puits, devaient être polluées surtout par les déchets animaux et humains, l'existence d'une pollution bactérienne dans 7 cas sur 11 où elle a été recherchée (FERRANT 18) l'évoque fortement. L'usage croissant des engrais azotés risque de reléguer cette cause au 2e plan. Pour DONEEN la moitié seulement des engrais répandus est absorbée par les plantes ; les échantillons d'eau souterraine prélevés au Texas (1966) par GRANT Thomas (14) et ses collaborateurs montrent une contamination importante des eaux à moins de 6 mètres de profondeur et une contamination rare à plus de 7 mètres, mais avec des exceptions. Aussi est-il indispensable d'effectuer des contrôles.

Le service de la Santé Publique des Etats-Unis donne comme teneur limite maximale dans les eaux potables 10 p.p.m. en nitrates, soit 45 mg par litre, exprimés en poids d'ion nitrate. Des doses supérieures provoquent des cas de méthémoglobinémie surtout chez les jeunes enfants. AUSSANNAIRE en 1968 rapporte 11 cas de méthémoglobinémie par eaux de canalisations urbaines (1). L'eau du robinet employée comportait

NO_2 = 4 mg/l (taux maximum toléré = 0,100 mg/l)

NO_3 = 33 à 40 mg/l (la circulaire ministérielle du 15 mars 1962 conseille un taux inférieur à 10 mg/l - Pour les eaux de table, il y a obligation de ne pas dépasser ce taux).

VIGIL (76) aux USA, étudiant le taux de nitrate des deux sources d'eau potable de la ville, constate qu'il dépasse à partir d'avril 1962 le taux limite de 45 mg/l de nitrate (exprimés en poids de NO_3). La nappe aquifère est polluée non seulement par les nitrates mais par d'autres produits agricoles herbicides, chlorites, chlorates et par des détergents synthétiques. Il rapporte le cas d'une mère qui, par ébullition prolongée, (elle trouvait que l'eau du robinet avait mauvais goût) a concentré involontairement les nitrates (de 63 à 73 mg de NO_3) dans l'eau du biberon, de l'enfant qui a présenté une cyanose méthémoglobinémique.

Le bétail peut être sérieusement touché lorsque la concentration est supérieure à 500 p.p.m. de nitrates. Les veaux allaités ont tendance à la déshydratation et si ce niveau se maintient élevé les animaux reproducteurs, en particulier les juments, avortent (14).

Bien que les cas publiés de méthémoglobinémies par eaux riches en nitrates soient rares, les animaux domestiques font des méthémoglobinémies après ingestions de nitrates. D'après MIYAZAKI AKIRA (44) et ses collaborateurs, l'administration de nitrate de sodium dans le rumen des moutons à la dose de 0,0379 % du poids du corps, s'accompagne de méthémoglobinémie. Les taux de méthémoglobine varient entre 0,1 et 1,5 g pour 100 ml, 7 h 30 après le repas toxique. L'absence de méthémoglobinémie par injection directe de nitrates dans le sang et la constance des taux de méthémoglobinémie obtenus par administration de nitrites dans le sang ou dans le rumen permet de penser que la méthémoglobinémie est en relation avec la quantité de nitrates réduit dans le rumen (panse, premier estomac des ruminants). Cette réduction présente des variations d'un animal à l'autre, remarquables.

II.1.4. Proportions d'engrais entraînés par les eaux

Il est impossible de chiffrer le pourcentage d'engrais susceptible d'être entraîné par l'eau. Une certaine quantité se retrouve retenue chimiquement et biologiquement dans le sol, elle dépend de la nature de celui-ci.

Mais si on admet que cette quantité reste constante pour un apport régulier annuel en engrais, la partie n'ayant pas été absorbée par les plantes représente 50 % environ de l'engrais enfoui dans le sol comme le montrent les résultats rassemblés dans le tableau ci-dessous provenant d'essais ef-

fectués en plein champ sur du foin pendant trois années consécutives, aux Etats-Unis (38) :

PROPORTION D'ENGRAIS AZOTE ABSORBE EN FONCTION DE LA QUANTITE D'ENGRAIS APPORTE

N apporté en kg/ha/an (b) livres/acre/an (a)		Poids en livres de foin récolté			Poids en livres de protéines			% de N_2
(a)	(b)	par acre	dû à N	par livre de N	par acre	dû à N	par livre de N	retrouvé dans le foin
0	0	2100			137			
50	55	4212	2112	42,2	269	132	2,64	42,2
100	110	7448	5348	53,5	513	376	3,76	60,2
200	220	10843	8734	43,7	959	822	4,11	65,7
400	440	16339	14239	35,6	1746	1609	4,02	64,4

Dans cette étude, l'application annuelle de l'engrais se fait en 4 fois au moyen de quantités égales, la 1ère a lieu en mars et les autres après chaque fenaison.

La dose normale de nitrate répandue dans les champs varie entre 55 et 110 kg à l'hectare. Mais des concentrations de 1100 kg de nitrate à l'hectare sont parfois employées pour des champs emblavés de certaines céréales dont le maïs.

Le taux d'assimilation par les plantes tombe alors au-dessous de 50 % et les eaux de pluie entraînent le surplus par lessivage du sol. Cet entraînement par les eaux de pluie et les doses très fortes employées pour la récolte des céréales ne sont pas limitées au nitrate de soude : les autres sels azotés entrant normalement dans les engrais se comportent de la même manière.

Pour évaluer le taux d'extraction des nitrates contenus dans les engrais, par les eaux de pluie, des essais ont été effectués par KHOL et ses collaborateurs (38). La proportion de nitrate provenant du lessivage par les eaux, des engrais répandus sur la terre, dans les bassins hydrographiques ser-

vant à la culture du maïs s'élève au moins à 55-60 % des nitrates contenus dans les eaux de ruissellement. Ces résultats obtenus par la méthode au nitrate marqué sont contestés par HAUK et ses collaborateurs (24).

De ces études et de celles effectuées dans divers autres pays, il est difficile de définir dans quel rapport a lieu l'augmentation de pertes en éléments nutritifs (azote, phosphore, potassium ...) consécutive à l'accroissement de la consommation d'engrais sans tenir compte des conditions d'emploi et des terrains.

Cependant parmi les éléments contenus dans les engrais il semble que les composés azotés et à un moindre degré les composés du phosphore soient les plus susceptibles de gagner les eaux superficielles et souterraines.

En France le pourcentage des doses d'engrais transférés dans les eaux de surface pour les composés azotés, se situe entre 10 à 25 % ; ces eaux sont à l'origine de nuisances ; à court terme elles contaminent les eaux souterraines, à long terme, s'accumulant dans les eaux de surface, elles conduisent à leur entrophisation (Seine-Normandie 1973, n°18, les pesticides, 87). Un lac est trophiquement menacé lorsqu'il contient plus de 300 mg/m3 d'azote combiné minéral.

II.1.5. Mécanismes d'extraction des nitrates

A ces emplois en excès des engrais, sont attribuées les teneurs élevées en nitrate de certains lacs des Etats-Unis au printemps.

Un rapport tout récent sur ce sujet a été établi par VAUGHAN (72) :

Dans certaines contrées des Etats-Unis en particulier au Lac DECATUR dans l'Illinois, la teneur en azote nitrique dans les eaux de boisson dépasse la concentration limite de 10 mg/l admise par le Ministère de la Santé. La ville se trouve à la ligne de partage des eaux de la zone de culture du maïs.

D'après les dosages faits par une méthode aux traceurs radio-actifs, la teneur en azote provient de la culture du maïs utilisant des engrais azotés qui sont employés en quanti-

tés exagérées. Il met ainsi en cause les méthodes d'exploitation agricole comme le faisait déjà DONEEN en 1966 (14) disant que certains fermiers californiens ajoutaient jusqu'à 40 tonnes/acre/an de fertilisants chimiques, alors que les fabricants eux-mêmes trouvent que l'emploi de telles doses est invraisemblable.

VAUGHAN ajoute que si la croissance des rendements en maïs se développe avec l'augmentation des engrais azotés elle passe par un maximum puis diminue. Les nitrates non utilisés et plus ou moins enfouis dans le sol sont dissous par les eaux de pluie en hiver et drainés par les eaux courantes au printemps.

II.1.6. Risques de pollution par l'emploi croissant des engrais

La teneur en nitrates des eaux doit augmenter progressivement si aucune mesure spéciale n'est prise du fait de l'utilisation de plus en plus répandue des engrais.

En effet la consommation des engrais dans le monde croît selon une courbe presque asymptotique d'après les données statistiques trouvées et résumées dans le tableau suivant : (Tableaux extraits de Encyclopedia Chem. Tech. 1971. 2e ed. suppl. p.339 - d'après KIRK-OTHMER) (36)

ANNEE	CONSOMMATION D'ENGRAIS CONTENANT $N_2 + P_2O_5 + K_2O$ En millions de tonnes
1905	2,5
1920	4,0
1930	6,0
1940	9,0
1950	12,0
1960	25,0
1965	35,0
1968	57,0

Les engrais azotés augmentent plus rapidement que les autres sortes d'engrais car l'azote constitue l'élément le plus nécessaire aux plantes bien que la source principale d'azote pour les plantes ne soit pas les engrais comme le montre le tableau suivant, mais l'azote atmosphérique :

SOURCES	% APPROXIMATIF EN AZOTE FERTILISANT	
	U.S.A.	FRANCE
Composés organiques naturels	1	1
Nitrate de sodium	2	3
Thiocyanure de sodium (charbon)	3	16
Azote atmosphérique	94	80

Les consommations en 1962-1963 étaient déjà les suivantes :

PAYS	CONSOMMATION EN 1000 DE TONNES
FRANCE	683
ETATS-UNIS	3 839
MONDE	12 350

Entre 1958 et 1963 la production des dérivés azotés augmentait plus vite que celle des produits phosphorés ou potassiques et en 1963 elle passait en tête dans le rapport : 1,0-0,89-0,60 (N-P_2O_5 - K_2O) . La production en engrais azotés était de 15 200 000 T.

II.1.7. Au total l'eau de pluie enrichie de façon variable en nitrates dans l'atmosphère, dissout au niveau du sol par lessivage de celui-ci, des quantités importantes de nitrates surtout, dans les régions d'amendements excessifs par les engrais azotés. L'usage croissant fait de cette "source" de nitrates, longtemps mineure par rapport aux déchets humains et animaux une source majeure dans la plupart des pays, dont les

USA et la France. Ces eaux se collectent dans les eaux superficielle et souterraine peu profonde. Celle-ci est alors utilisée (puits, sources et même eau de canalisation urbaine) par l'homme pour lui-même et son bétail. Elle est directement dangereuse s'il y a eu réduction des nitrates en nitrites au préalable c'est-à-dire par les bactéries de souillures du sol, ou de contamination fécale des puits. Elle est occasionnellement dangereuse lorsque la réduction a lieu dans le tube digestif des très jeunes enfants ou des ruminants, réduction favorisée par la prolifération de bactéries dans la partie supérieure de l'intestin. L'eau riche en nitrates apparaît comme une menace pour la santé lorsque ces conditions sont réalisées. L'eau à forte teneur en nitrates et nitrites peut être employée comme eau de boisson ou dans la fabrication de bière, elle est rarement à l'origine de méthémoglobinémie de l'adulte chez lequel la forte acidité du pH gastrique interdit toute réduction et dont les systèmes d'oxydo-réduction sont matures. Par contre cette eau est utilisée pour laver et pour cuire les aliments des enfants, elle sert à préparer les biberons, à diluer le lait artificiel, à faire les "bouillies". C'est pourquoi le très jeune enfant, particulièrement vulnérable, a fait l'objet de nombreux accidents méthémoglobinémiques par eaux riches en nitrates (ou nitrites), comme en attestent les multiples publications.

L'ingestion de nitrates par l'eau de boisson, la bière, le lait ou l'eau servant à la préparation des aliments ne constitue qu'une partie des apports en nitrates. Les aliments en contiennent des quantités non négligeables parfois. Les cas récents de plus en plus fréquents d'intoxication secondaire à l'ingestion de légumes provoquent un regain d'intérêt. C'est pourquoi il est nécessaire de multiplier des études extensives toxicologiques et sanitaires sur les denrées alimentaires.

II - 2 ALIMENTS

II.2.1. Légumes

a) Les carottes

- teneurs en nitrates et nitrites des carottes

Il s'avère que dans la Manche le taux des carottes en nitrates est extrêmement variable (62) : 128 mg à 1000 mg NO_3 par kg ; alors que la teneur en nitrites est relativement fixe : 0,9 à 2,1 mg par kg.

Les mêmes constatations sont faites aux Etats-Unis, en Floride (34) : Le taux des nitrates varie entre 39 et 108 p.p.m pour les carottes fraîchement récoltées et cultivées sans engrais et de 220 à 405 p.p.m. pour celles poussées avec amendements organiques. Le taux des nitrites est constamment de 0,2 p.p.m., même pour les carottes de Californie dont la teneur moyenne en nitrate est pourtant remarquablement faible (22 p.p.m.).

Les carottes de Floride responsables de la méthémoglobinémie du jeune noir américain (première observation rapportée) contenaient 1300 p.p.m. de nitrates environ à la récolte. Il s'agit donc de quantités bien supérieures à celles couramment trouvées. De même dans un des cas publiés par L'HIRONDEL (40) le taux de nitrate s'élève à 1100 mg par kg.

- Origine des nitrates (et des nitrites)

Ils sont puisés par la plante dans le sol, et en quantités d'autant plus importantes que celui-ci est enrichi en nitrates par l'emploi d'engrais organiques ou surtout engrais inorganiques azotés. Toutefois l'absorption de nitrate par la plante n'est pas infinie ; on vient de voir qu'une quantité importante pouvait être solubilisée et entraînée par les eaux de pluie, de ruissellement, d'irrigation.

- Absorption et accumulation des nitrates

L'emploi d'engrais azotés est compté en unité (1 unité = 1 kg d'azote par hectare). La plupart des agriculteurs utilisent entre 1 et 100 unités mais 1/5 d'entre eux ajoute 60 unités à l'époque des jeunes feuilles sous forme de nitrate de calcium en poudrage. La teneur en nitrate est encore liée à la nature même du terrain, au climat (au cours de la culture, un climat sec et chaud par exemple favorise une poussée bactérienne qui décompose l'humus et augmente l'azote minérale) et enfin aux pesticides associés, notamment ceux agissant contre les nématodes de la carotte (dichloro propène) susceptibles théoriquement d'inhiber les bactéries nitrifiantes et d'abaisser ainsi l'azote nitrique du sol. De la thèse de N. SIGNORET il ressort qu'il n'existe pas une relation linéaire entre la teneur en nitrate des carottes et la quantité d'engrais azoté employée en raison des facteurs déjà cités (rôle du climat, terrain, pesticides) et de la nature de la plante. La carotte, dont la croissance est lente, n'accumule pas plus vite les nitrates fournis qu'elle ne les métabolise. Aux Etats-Unis, bien que l'emploi d'engrais organiques influence notablement la teneur en nitrate des carottes (55) (34) par rapport à celles cultivées sans engrais, il existe de nombreux autres facteurs qui pourraient être tenus pour responsable de certaines teneurs en nitrates considérables mais exceptionnelles comme celles de la première observation citée :

- La variété génétique des plantes (il s'agissait de carottes n°9 Asgrow AX2)

- La physiologie de ce légume (la physiologie "post-mortem" des plantes semble ne pas avoir fait l'objet de nombreuses investigations antérieures)

- L'exploitation agricole des tourbières, les méthodes de fumaison, de stockage etc...

Actuellement aucun facteur n'a pu être encore incriminé de façon certaine et depuis la publication de cette observation de nombreuses autres suggestions ont été faites notamment par des parasitologues, des agronomes, des physiciens.

- Mécanismes de réduction

On invoque, pour expliquer la transformation des nitrates en nitrites, une activité bactérienne. Cependant cette réaction est tout à fait remarquable car elle s'oppose à celle des nitrobacter du sol. D'après N. SIGNORET (62) il existe une

quantité considérable de germes capables de cette réduction, aussi banaux que les colibacilles, protéus, staphylocoques.. La plupart des microorganismes couramment trouvés dans le tractus gastro-intestinal de l'homme sont capables de réduire in vitro les nitrates en nitrites.

Cette réduction peut avoir lieu dans le tube digestif de l'enfant. La faible acidité du pH gastrique, l'existence d'une gastro-entérite infectieuse soutiennent ce mécanisme. Il semble qu'elle ait plus souvent lieu avant ingestion ; la transformation des nitrates en nitrites, des soupes de carottes est exogène, due à une contamination bactérienne survenant surtout au cours de la préparation ou de la conservation de la soupe. Outre des fautes d'hygiène élémentaires relevées dans certaines observations, N. SIGNORET s'appuie sur la précocité des symptômes survenant parfois avant même la fin du repas - [en 1951 FERRANT (18) notait un délai d'au moins 24 h entre l'ingestion d'eau riche en nitrate, avec réduction endogène en nitrite et l'apparition d'une cyanose méthémoglobinémique ; il s'appuyait sur 30 cas, colligés dans la littérature] - et sur l'absence de méthémoglobinémie en pouponnière avec la soupe de carottes faite par des puéricultrices compétentes, malgré la présence en abondance de germes dénitrifiants, très résistants tant aux agents chimiques que physiques. DUPEYRON, MONIER et FABIANI (16) ayant observé la survenue de méthémoglobinémie chez certains des nourrissons diarrhéiques recevant de la soupe de carottes, pour cette raison, arrivent à des conclusions voisines en utilisant une méthode de dosage chimique des nitrites adaptée au cas particulier de la soupe de carottes: il existe une teneur anormalement élevée de nitrites dans la soupe des enfants méthémoglobinémiques. L'eau employée, l'origine des carottes (et par conséquent l'emploi d'engrais azotés), le tartre de la vaisselle (en raison des bactéries qu'il aurait pu retenir) ont été tour à tour, mis hors de cause, dans leurs observations. L'apparition de nitrites, observée au cours de la conservation de la soupe, surtout importante à partir de la 12e heure n'a pas non plus une origine biochimique, l'ébullition prolongée ayant dénaturé les enzymes, ni une origine bactérienne par contamination antérieure à la préparation, cette même ébullition ayant selon toute vraisemblance détruit la totalité des germes. Ces auteurs concluent à la responsabilité de l'air ambiant dans la contamination bactérienne de la soupe. GOUNELLE de PONTANEL et ses collaborateurs (20), remarquent aussi l'apparition de nitrites dans les soupes de carottes faites "à la maison" et surtout après 24 heures, alors que les "petits pots" restent intacts le plus souvent. L'usage largement répandu d'aliments tout préparés pour nourrissons peut être responsable de l'absence apparente de méthémoglobinémie par la soupe de carottes hors de France (34). Outre l'absence de mani-

pulation septique, une grande quantité de nitrate est extraite par l'eau servant dans la préparation industrielle.

La contamination bactérienne a donc lieu le plus souvent au cours de la préparation "familiale" ou de la conservation des soupes de carottes. Cependant elle peut avoir lieu à tous les niveaux, depuis la récolte jusqu'à la mise en réserve des soupes de carottes en passant par le transport, l'emballage et la conservation du légume avant sa transformation en soupe : les carottes (20) gardées à 20°C permettent une multiplication de germes aérobies. Cette prolifération est encore accrue par les emballages plastiques même perforés, qui créent une atmosphère confinée, très humide favorisant ainsi les spores des champignons et des levures ; la putréfaction qui en résulte s'accompagne de la multiplication de germes. Enfin, il n'y a pas de réduction des nitrates sur les carottes fraîches ou bien conservées ; N. SIGNORET (62) conseille de les conserver en terre, où l'humidité est satisfaisante et d'éviter les caves trop humides, qui, favorisant les moisissures entraînent à partir des altérations, une prolifération bactérienne provoquant de faibles quantités de nitrites.

Cependant la première observation (34) rapportée, concernant le jeune noir américain, prouve qu'il peut exister une réduction des nitrates dans la plante elle-même, après la récolte, en dehors de toute altération et de toute prolifération bactérienne. Ce phénomène vraisemblablement favorisé par la forte teneur en nitrate initial pourrait être dû à une réductase comme c'est le cas pour les épinards. Mais une telle réductase n'a encore jamais été isolée de la carotte.

Dans la carotte par ailleurs, on trouve les résidus de quelques insecticides chlorés, à des teneurs élevées : le Lindane d'une part et l'Aldrine et le Dieldrine d'autre part. Les limites maximales tolérées dans la Communauté Européenne sont pour le premier 2 mg/kg et pour les deux autres cumulés 0,2 mg/kg. Ces pesticides liposolubles, toutefois, s'accumulent dans l'huile essentielle de la carotte. Celle-ci est surtout contenue dans l'écorce, en grande partie enlevée par l'épluchage.

b) Les épinards

cause fréquente de méthémoglobinémie Outre-Rhin.

- Quantités de nitrates et de nitrites

La teneur en l'élément azoté peut s'élever dans les épinards jusqu'à 3600 mg NO_3 par kg. Cependant dans les purées toutes préparées pour enfants elle est faible et ne dépasse pas 33 mg par kg (32 - Claude JARDIN). Des teneurs en nitrates, élevées sont régulièrement retrouvées, et un taux critique de 300 mg de NO_3 par kg et couramment dépassé. Le taux des nitrites est, dans une certaine mesure, inversement proportionnel à celui des nitrates comme dans l'observation presque caricaturale rapportée au premier chapitre : 218 mg d'ion nitrite pour quelques traces d'ion nitrate dans 100 g d'épinards frais. D'autres épinards testés ne présentaient pas, par contre, de nitrites.

- Origine des nitrates, absorption et accumulation des nitrates

L'ion nitrate, constituant naturel des végétaux, est la principale source minérale de l'azote nécessaire à leur croissance. Les enquêtes agronomiques, entreprises en Allemagne montrent que dans les épinards les taux très élevés sont liés à un amendement excessif pour cette plante dont la croissance rapide ne permet pas l'utilisation de l'azote qu'elle accumule ; mais même en l'absence d'amendement en excès, les taux de nitrates peuvent être élevés (et dans les circonstances défavorables il se forme assez de nitrites pour présenter un risque pathologique).

L'accumulation des nitrates dans cette plante n'est pas seulement fonction de la richesse en NO_3 du sol mais aussi:

- des caractéristiques de la variété
- de l'équilibre (ou déséquilibre) nutritionnel
- et de la faible intensité lumineuse en période de maturation.

- Circonstances de réduction

La transformation en nitrite est liée à :

- la durée de l'entreposage
- la température ambiante (réfrigérateur)
- la préparation "à la maison" (comme pour les soupes de carottes et pour certains aliments mis en cause au Danemark).

Ces circonstances sont à l'origine d'une contamination bactérienne avec prolifération (les spores se développent quand le produit est entreposé dans certaines conditions : air libre, ou longtemps après décongélation). C'est cette population bactérienne qui serait à l'origine de la réduction des nitrates (32). Parfois, de nombreuses bactéries présentes dans la plante avant toute préparation (le rôle des engrais organiques semble important) sont susceptibles de réduire les nitrates. De même le cas des épinards congelés, mais déjà contaminés avant congélation et par conséquent susceptibles de contenir des nitrites, est aussi envisagé par N. SIGNORET (62).

L'existence d'une prolifération bactérienne dans les épinards (avant préparation) peut être suspectée sur leurs altérations. Elle est quasiment certaine en cas de bombement de boîte de conserve d'épinards. La flore bactérienne réductrice abondante se multiplie entre 30 et 50° activement. En 4 ou 5 heures, elle convertit la quasi-totalité des nitrates en nitrites. Pendant la stérilisation il y a :

- destruction de la flore bactérienne
- transformation de NO_2 en NO oxyde nitreux car les nitrites sont instables en milieu acide (épinards pH 5,5 à 6,3)
- cet oxyde d'azote donne mauvais goût et fait bomber la boîte
- à l'ouverture, il est instable et se transforme en peroxyde d'azote (32).

La grande originalité de la réduction des nitrates en nitrites dans l'épinard tient à l'existence d'un facteur enzymatique : la Flavine nucléotide réductase, enzyme réductrice de nitrate, isolée de l'épinard et purifiée. En fait la réduction de NO_3^- dans un chloroplaste d'épinard se fait à la lumière et dans l'obscurité . Dans l'obscurité et en présence de FMN*, la nitrate oxydo-réductase réduit NO_3^- avec oxydation d'un $NADPH_2$ par le $NADPH_2$ réductase système. A la lumière et en présence de grain (chloroplaste), NO_3^- se comporte en accepteur terminal d'électron dans une photophosphorylation non cyclique d'un nouveau type. La constante de Michaelis du FMN dans ce système est de 0,02 mM. A la lumière en présence

---

* FMN : Flavine, nucléotide servant de coenzyme dans de nombreuses réactions biologiques.

de chloroplaste, de FMN, de ferredoxine, de nitrate réductase et nitrite réductase et de $NADPH_2$ l'ion NO_3^- est successivement transformé en NO_2^- puis en NH_3. La NADP réductase et la nitrate réductase sont des protéines différentes. La nitrate réductase a un pH maximum de 7,6 - (41 - LOSODA).

Le rôle respectif des systèmes enzymatiques d'une éventuelle prolifération bactérienne (et du taux élevé initial en nitrate) dans la réduction en nitrites reste encore à déterminer. Quant aux facteurs liés à l'enfant :

- persistance de l'hémoglobine foetale
- taux bas de diaphorase I
- gastro-entérite favorisée par un pH gastrique faiblement acide

leur rôle est primordial car, comme dans les cas de l'eau et de la carotte, il s'agit toujours de très jeunes enfants qui font les accidents patents de méthémoglobinémie.

En conclusion pour limiter les risques de méthémoglobinémies on peut d'une façon un peu radicale déconseiller chez le très jeune enfant l'emploi d'épinards préparés de façon traditionnelle. En effet, on n'a pas rapporté depuis 20 ans de cas par les "petits pots du commerce". Ouverts et conservés au réfrigérateur 35 jours, il ne se forme pas de nitrites. Il semble que la préparation industrielle entraîne :

- l'inactivation des enzymes
- l'élimination des bactéries
- la perte de nitrates jusqu'à 50 % (cependant il faut éviter de consommer les restes d'épinards).

c) Les autres légumes et végétaux

- Teneurs en nitrates et nitrites

Le taux en nitrate varie remarquablement d'une plante à l'autre ; il peut atteindre 4500 mg par kg dans la rhubarbe. Dans les asperges il est très variable (50 à 4500 mg par kg). Par contre dans les purées pour enfants il est constamment très faible (purées toutes préparées) : environ 9 mg pour celles de courges, de pois ou de tomates (32).

Dans le but de savoir si les sels de nitrates et nitrites étaient à des concentrations dangereuses HEISLER et ses collaborateurs du service de recherche agronomique de Philadelphie ont analysé 22 espèces de pommes de terre mises sur le marché dans diverses localités des Etats-Unis (26). Les teneurs moyennes sont de 120 p.p.m. de nitrate et de 0,44 p.p.m de nitrite. La concentration en nitrate varie d'une manière importante 82 p.p.m. à 151 p.p.m. Le cas des "chips" est envisagé. La teneur dépend de l'espèce et de la concentration des engrais. Mais au total la teneur en ces sels n'est pas considérée comme excessive.

Des divers dosages, il ressort que la consommation quotidienne de nitrates s'élève à environ 1 à 2 g par jour , apportés surtout par les légumes frais (32).

Les salades, les aubergines, les céleris et d'autres légumes provoqueraient des accidents méthémoglobinémiques de façon très inconstante. Cependant, si ces légumes sont souvent cités par de nombreux auteurs, les références à d'authentiques observations médicales sont rares.

Les nitrates et les nitrites de certaines plantes peuvent aussi être la cause de méthémoglobinémie chez les jeunes animaux. Le foin de l'avoine qui en contient de fortes doses est parfois toxique (SEYNAVE) (59). De même la menthe sauvage d'Australie, fait des ravages dans certains troupeaux de moutons ; les betteraves, dont la tige et le collet sont très riches en ions nitriques, données aux bovins, provoquent non exceptionnellement des méthémoglobinémies. D'autres cas, par contre, sont liés à l'ingestion de chlorates employés pour détruire les mauvaises herbes.

- Origine des nitrates, accumulation dans la plante

Ils sont puisés dans le sol par ces plantes, comme pour les carottes et les épinards ; mais dans une large mesure la teneur en nitrates varie avec les conditions du milieu de culture : engrais employés (RAUSA et ZABEO (48)) et nature du terrain. L'absence de molybdène, en particulier, facilite l'accumulation de nitrate dans la plante (54).

- Réduction des nitrates en nitrites

Elle se fait sous l'influence de prolifération bactérienne, semble-t-il, mais les travaux récents montrent qu'il existe dans la plupart des végétaux supérieurs un ou des systèmes enzymatiques capables de réduire les nitrates en nitrites puis en ammoniaque avec production d'oxygène et formation d'ATP. Cette réaction a lieu dans les chloroplastes sous l'influence des photons lumineux ou en l'absence de lumière (41) (73).

II.2.2. Le lait

a) lait entier

C'est en 1949 que DONAHUE a exprimé que les méthémoglobinémies de l'enfant pourraient résulter de l'ingestion par celui-ci de lait enrichi en nitrates car la mère nourricière, ou les vaches produisant le lait buvaient une eau à forte teneur en nitrate. Cependant cette hypothèse a été abandonnée par la plupart des auteurs après les travaux de GRAHAM WALTON et collaborateurs (78). Aucun dosage des nitrates ne s'est montré significativement positif dans le lait de deux vaches nourries pendant 10 jours avec de l'eau contenant 114 p.p.m. de nitrates.

b) laits secs

KNOTECK et SCHMIDT (Prague 1964) (37) ont remarqué l'extrême fréquence des méthémoglobinémies chez les nourrissons alimentés avec de l'eau et du lait sec. L'eau de Pragues est riche en nitrate, mais les auteurs ont été amenés à incriminer le bacillus subtilis : Les enfants nourris avec de l'eau riche en nitrates et avec des laits secs présentent une méthémoglobinémie élevée, les enfants nourris avec la même eau et du babeurre sont indemnes. Les laits secs contiennent des spores de bacillus subtilis, qui réduisent intensément les nitrates en nitrites. Ils nécessitent in vitro, comme in vivo (rats et veaux nouveau-nés) un délai d'au moins 10 heures. Ces bactéries poussent dans les laits entiers, écrémés et acidifiés et non dans le babeurre qui contient un bacillis lactis dont l'effet antibiotique prévient la croissance des germes sporulants, propriété des germes de la fermentation lactique.

II.2.3. Viandes et poissons

Les nitrates de sodium et de potassium ont été abondamment utilisés dans la fabrication des conserves de viande et de poisson ainsi que dans la charcuterie. Ils étaient censés garder la coloration rouge de la viande mais depuis une cinquantaine d'années on a trouvé que les nitrites provenant de la réduction des nitrates étaient en fait le seul agent actif. Aussi actuellement emploie-t-on préférentiellement le nitrite de sodium (Hand-book of food additives : Antimicrobial food additives : Nitrites and nitrates - FURIA ed. CRC Press 1972 2e ed., 82).

D'importantes quantités de chlorure de sodium s'utilisent toujours conjointement soit chaque sel présenté séparément, soit sous forme de sel ordinaire nitrité, augmentant semble-t-il le pouvoir antibactérien.

Sur le plan légal, les produits traités de la sorte ne doivent pas contenir plus de 150 mg/kg en France, 200 mg/kg aux Etats-Unis de nitrite de sodium, et 500 mg/kg de nitrates aux Etats-Unis (17) (FARKAS).

L'action la plus évidente du nitrite de sodium est de transformer après sa décomposition en monoxyde d'azote NO la myoglobine, instable à la cuisson, en nitrosylmyoglobine dont la couleur rouge persiste à la chaleur ce qui donnerait un aspect plus appétissant.

L'action moins évidente mais infiniment plus utile est son activité anti-bactérienne (21) (30) dont surtout son pouvoir inhibiteur sur la croissance de la clostridie du botulisme et par conséquent sur la formation de la toxine botulique.

L'action anti-microbienne des nitrites et même des nitrates a été démontrée in vitro mais elle ne permet que rarement la stérilisation complète des milieux employés notamment lorsqu'il existe une forte charge initiale en spores. Des clostridies perfringentes sont extraites du jambon normalement séché et fumé, de même une salaison à 3,6 % avec 150 p.p.m. de nitrite suffit à préserver des souillures de l'aire d'équarissage les porcs quand le taux des spores est inférieur à une spore par gramme de viande mais pas à un taux de 50 spores par gramme.

Des teneurs maximum de 300 µg/g inhibent la croissance de ces bacilles quelle que soit la période d'incubation (et à ces doses on n'a pas détecté la formation de nitrosamines).

Le mécanisme de l'action antimicrobienne des nitrites n'est pas résolu ; une réaction avec certains amino-acides pourrait bloquer les systèmes enzymatiques ; la réaction avec l'hème pourrait être étendue à tous les systèmes transporteurs d'hydrogène de type cytochrome mais les micro-organismes bloqués ne possèdent pas ces structures respiratoires hémiques. C'est pourquoi beaucoup d'auteurs pensent à un défaut inhibitionnel créé quand les nitrites réagissent avec les constituants sulfhydryles et les condensats sulfhydryl-aldéhydes non métabolisables en milieu anaérobie (D'après Hand-book of food additives 1972, 82).

Pour GREENBERG (21) il n'existe pas d'action antibiotique du nitrate de sodium seul, ni même une action synergique lorsqu'il est ajouté au nitrite de sodium. Uniquement, ce dernier empêche la formation de toxine du Clostridium Botulinum dans le jambon séché lorsque le produit est conservé à 40° pendant 6 mois.

Ces conditions facilitent l'éclosion des spores et la prolifération de ces bacilles, anaérobies strictes, surtout au voisinage de l'os du jambon.

La teneur en NO_2 nécessaire pour inhiber complètement la production de toxine, dépendant du taux de spores initial, s'élève à 200 et 500 p.p.m. de NO_2 respectivement efficace pour des taux de spores de 100 et 1 000 spores/g.

Les teneurs en NO_2 disparaissent suivant une progression géométrique avec le temps après son incorporation à la viande; cependant ce sont les concentrations en nitrites de départ plutôt que celles de NO_2 restant en fonction du temps qui constituent le facteur agissant sur la protection.

Il en résulte que la réduction des teneurs en nitrites couramment approuvées pour les jambons risque d'augmenter l'incidence d'intoxication botulique. Une telle mesure (la diminution de l'emploi des nitrites) ne semble pas exclue car l'étude de KEMP (35) sur la préparation habituelle des

jambons fumés permet de chiffrer des quantités de nitrites et nitrates non négligeables au moment de la consommation de ces jambons =

En vue de déterminer les propriétés des jambons fumés en fonction du temps de conservation et de la qualité du produit de départ KEMP et ses collègues à la station expérimentale du Kentucky préparent les jambons de la manière suivante :

Les jambons sont desséchés séparément en utilisant un mélange constitué de 73,6 % de sel, 24,5 % de sucre, 1,3 % de KNO_3, et de 0,6 % de $Na\ NO_2$.

Le mélange est appliqué 3 fois à 3 jours d'intervalle de sorte que le total du mélange appliqué corresponde à 10 % du poids frais. Après séchage pendant 30 j à 23°C les jambons sont maintenus 30 j à 7°C pour homogénéiser le sel et ensuite sont fumés à 37°C pendant 24 h. Après fumage les jambons sont vieillis 5 mois à 18°C dans une atmosphère ayant un degré d'humidité d'environ 65 %.

Dans les jambons fumés ainsi traités la teneur en sel varie en fonction de la qualité du jambon de départ, entre 6,01 et 6,43 % d'après les analyses faites selon les méthodes officielles de l'Association of Official Agricultural Chemists, si on admet que les proportions du mélange pour la salaison sont restées les mêmes, la proportion de nitrate de K contenu dans le jambon serait de :

$$\frac{6 \times 1,3}{100} = 0,078\ \%\ \text{soit}\ 780\ \text{p.p.m.}$$

et de nitrite de sodium de :

$$\frac{6 \times 0,6}{100} = 0,036\ \%\ \text{soit}\ 360\ \text{p.p.m.}$$

Ces quantités constituent des apports non modestes, puisque les teneurs maximum tolérées aux USA sont, respectivement de 500 mg/kg de NO_3 et de 200 mg/kg de NO_2.

Les nitrates très stables par ailleurs sont transformés en nitrite par les micro-organismes mais en faible quantité car le rôle de réservoir de nitrite escompté par l'adjonction de nitrate n'est pas vraiment retrouvé. Les nitrites

sont extrêmement réactifs avec la matière organique mais aussi très labiles à la chaleur permettant ainsi d'expliquer la diminution progressive de ce composé.

De même, les quantités de nitrates et nitrites dans les saucisses et les viandes cuites industrielles, non entreposées à l'abri de la chaleur diminuent avec le vieillissement de ces denrées. Les essais effectués par CANTONI et ses collaborateurs (4) montrent que les teneurs détectables en ces sels sont modérées pour tous les produits cuits et conservés (viandes), mais 57 % des jambons analysés contiennent des taux trop élevés en nitrates. Cependant, après plusieurs mois de conservation les teneurs résiduelles peuvent descendre entre 0 et 12 mg/kg. De tels taux résiduels ne peuvent affecter la santé, comparés à la dose DL 50 par voie orale chez la souris (257-267 mg/kg de nitrate de sodium), chez les rats (200 mg/kg Na NO_3) ou chez les chiens (330 mg/kg Na NO_3). Il n'en est pas de même pour les doses initiales (doses permises aux U.S.A. = 500 mg/kg de Na NO_3).

Certains chercheurs pensent que les nitrites contribuent à l'apparition du goût caractéristique non seulement du bacon, mais aussi des saucisses de Francfort. HENDERSON (27) rapporte que ces saucisses ingérées par certaines personnes "sensibles" aux nitrites sous forme de"hot-dog" occasionnent des maux de tête (crise nitritoïde, méthémoglobinémie). Toutefois un accident sérieux de méthémoglobinémie est signalé dans la littérature survenu chez un homme de 48 ans consommant tous les jours 500 g de saucisses. Ces saucisses contenant 181 mg de NO_2 par kg de matière étaient à la limite légale (200 mg/kg). Ce cas semble isolé.

L'adjonction de nitrates et/ou de nitrites est autorisée et pratiquée pour de nombreux autres produits :

la viande de volaille au Canada
le poisson fumé et séché aux USA
le poisson en Suède et Norvège
le fromage en Angleterre, Hollande

Par contre les huiles de soja et les lipides ne se conservent pas avec les solutions de nitrite ; il se forme des peroxydes qui sont inhibés par le tocophérol ou vitamine E (SHIMAHARA K. - 61).

II - 3 PROCEDES ABAISSANT LA TENEUR EN NITRATES DANS L'EAU

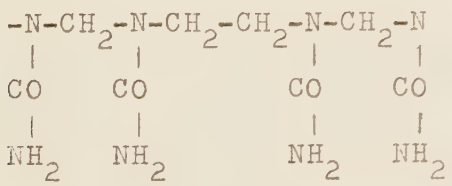
II.3.1. Les engrais principalement vendus sur le marché contiennent actuellement plusieurs éléments nutritifs et se présentent sous forme de mélanges granulés.

La tendance actuelle est d'utiliser des engrais plus concentrés en les mettant en suspension dans l'eau et en les vendant sous l'appellation "d'engrais liquide ". On injecte aussi directement dans le sol l'ammoniac gazeux grâce à des appareils spéciaux. Cette tendance ne favorise pas la tenue des engrais au lessivage par les eaux de ruissellement.

Mais une nouvelle méthode intéressante pour améliorer cette résistance consiste à utiliser des engrais enrobés ou à action retard. Dans ces engrais les grains de sels fertilisants sont recouverts d'une pellicule protectrice qui ne libère que progressivement ces sels. La vitesse de libération du sel est fonction de sa vitesse de diffusion au travers de la paroi (43).

Pour obtenir un engrais mis sous cette forme MITSUI TOATSU enrobe un mélange de sulfate de potassium et de phosphate acide d'ammonium d'une pellicule de résine constituée par un cocondensat : urée, formaldéhyde + acétaldéhyde.

La polycondensation se fait par addition simultanée des deux aldéhydes sur l'urée puis par déshydratation des méthylolurées formées et copolymérisation pour donner une résine ayant comme motif :



Pour que la pellicule ait un coefficient de diffusion convenable à cet emploi le rapport : formol-acétaldéhyde de départ et le rapport : urée/formol + acétaldéhyde doivent être compris entre 1/1 et 20/1 et 1/1 à 2/1.

Des réserves : urée-formol contenant des groupes poly-éthylidènes s'utilisent aussi. Un certain nombre d'engrais basés sur ce principe sont industrialisés.

Cette forme d'engrais abaisse la teneur en nitrate car elle empêche la dissolution massive du nitrate sous l'action des averses et elle permet d'employer un excès moins grand d'engrais en maintenant constante la teneur en sels fertilisants dans le sol.

Seulement le prix de ces engrais est plus élevé.

II.3.2. Destruction des nitrites par voie biologique

Comme les plantes vertes, certaines algues bleu-vertes (79), des bactéries (15) et des champignons réduisent le nitrate en ammoniac qui est assimilé comme une source d'azote en biosynthèse.

Le nitrite et l'hydroxylamine sont les produits intermédiaires de réduction. Le nitrate sert aussi d'accepteur d'électron dans la respiration anaérobie, transporté par des bactéries qui réduisent l'azote nitrique seulement en nitrite.

Un nombre limité de bactéries est capable de réduire le nitrate en azote élémentaire par une série de processus respiratoires anaérobies dont la somme constitue la dénitrification (DUCHENNE - 15).

Dans certaines études, le nitrite, l'oxyde nitrique et l'oxyde nitreux ont été identifiés comme produits intermédiaires, quelquefois l'oxyde nitreux constitue le produit final de la dénitrification de certaines espèces bactériennes.

II - 4 CONTROLE DES TENEURS EN NITRATES ET NITRITES

D'après les normes de composition de l'eau potable les maximum admissibles varient pour NO_3 + NO_2 calculé en N_2 entre 0 et 10 mg/l et pour les nitrates calculés en NO_3 entre 10 et 45 mg/l. Les teneurs maximum tolérées dans les viandes sont de 150 mg/kg en France de nitrites et 200 aux USA. Ces réglementations nécessitent donc des dosages très précis, et aussi de nombreux contrôles ; pour cette raison des méthodes de plus en plus perfectionnées sont mises au point pour analyser les sols, l'eau, les aliments.

DOSAGES DES NITRATES ET DES NITRITES

II.4.1. L'American Public Health Association (APHA) met au point des méthodes pour contrôler avec plus de précision la contamination des eaux par le nitrate entraîné par la pluie afin de normaliser les méthodes d'analyse (82 - 22).

II.4.2. La méthode la plus efficace à l'heure actuelle d'après GLEASON est basée sur la réduction du nitrate en nitrite par action de l'amalgame de cadmium. L'acide nitreux formé est dosé par photocolorimétrie sous forme de colorant azoïque (19).

Les essais ont porté sur des eaux de pluie contenant entre 0,4 et 2,2 p.p.m. de NO_3^- (ou pg/ml). Le taux de réduction dépasse 90 % et la reproductibilité du dosage est supérieure à $\pm$ 0,01. Cependant il faut noter que les impuretés de l'eau et les oxydes d'azote provenant des décharges électriques de l'atmosphère peuvent interférer.

II.4.3. Pour les dosages à grande échelle, des nitrates RAVEH (49) propose une méthode par potentiométrie (à l'aide d'électrodes spécifiques), s'effectuant en solution citrique, et s'appliquant particulièrement bien aux sols riches en matières organiques et aux plantes.

II.4.4. Pour améliorer la vitesse et la sensibilité du dosage des ions nitrites, CELARDIN et ses collaborateurs de l'université de Genève viennent de mettre au point une méthode photocolorimétrique dont la sensibilité permet de détecter des traces de nitrite de l'ordre des nano-traces (6).

Cette technique a de plus les avantages suivants :

- un mode opératoire simple
- une grande sélectivité
- une bonne reproductibilité
- une coloration stable.

Le principe de la méthode est basé sur la réaction de diazotation de l'amino-acétophénone par l'acide nitreux suivie d'une copulation par la N-phényl-1 naphtylamine ou la N-phényl-2-naphtylamine qui donnent des colorants absorbant respectivement aux longueurs d'ondes situées à : 618 nm et 524 nm. La N-phényl-1-naphtylamine est un réactif très sensible mais le degré d'absorption du colorant dépend du pH de la solution. Avec la N-phényl-2-naphtylémine, le degré d'absorption est indépendant du pH à cause de la formation probable de liaison hydrogènes intra-moléculaires ; cette propriété permet les dosages en milieu acide.

Ces méthodes appliquées aux eaux naturelles ont montré la possibilité de doser des quantités de nitrite de l'ordre de 121 ng ml^{-1} avec une erreur relative de $\pm$ 11 % . Elles marquent un progrès au point de vue de la sensibilité et de la rapidité des dosages sur les méthodes antérieures.

II.4.5. Le dosage des nitrites dans les viandes, aux USA, bénéficie d'améliorations récentes (NICHOLAS R. 45) permettant à la méthode colorimétrique officielle de gagner en précision dans les mesures.

II.4.6. DUPEYRON et ses collaborateurs (16) proposent une méthode de dosage chimique des nitrites, adaptée au cas particulier de la soupe de carottes : La méthode classique de ZAMBELLI utilisant la diazotation par les nitrites en milieu acide de l'acide para-sulfanilique, puis la copulation du sel de diazonium obtenu, avec le phénol : le colorant formé présente un maximum d'absorption à 435nm, or il se trouve que le caroténoïde présente un pic d'absorption à 440 nm et la dé-

fécation ferro cyanozincique de ce dernier n'est pas parfaite. La coloration obtenue par cette méthode est très accrue en milieu alcalin et peut faire conclure à tort à des teneurs élevées d'autant plus que les textes officiels imposent un taux limite en nitrite de 0,100 mg par l. d'azote nitreux pour les eaux potables. A de tels taux la coloration est très peu sensible. Les auteurs ont utilisé le réactif de Saltzman, modifié par l'emploi de N naphtyl, N'diéthyl propylène diamine au lieu de N (1-naphtyl) éthylène diamine.

II.4.7. Enfin YANG et LOW proposent une méthode de dosage des mélanges des nitrates et nitrites en solution par spectrométrie infra-rouge à réflexion interne.

Les limites de détection sont respectivement de :

NO_2^-	0,02 M (molaire)
NO_3^-	0,001 M
Mélange binaire	$NO_3 \leqslant$ 0,03 M NO_2 0,05 M

Il est aussi possible d'observer les liaisons N-H et C-H. Ce spectromètre enregistreur est basé sur le principe de la transformation de Fourier et les techniques de réflexion interne.

-:-

CONCLUSION

-:-

Les publications compulsées dans cette étude apportent des précisions sur les risques encourus par l'homme du fait de la consommation croissante des nitrates et des nitrites et les moyens mis en oeuvre pour lutter contre les maladies provoquées par ces produits.

Les risques de méthémoglobinémie provenant de l'eau polluée restent faibles. S'il apparaît difficile de limiter l'enrichissement en nitrate et nitrite de l'air et de l'eau de pluie - encore qu'une partie importante de ceux-ci soit liée à certaines pollutions industrielles, à la combustion d'essence ou de fuel - par contre le contrôle des eaux de consommation paraît être instauré de façon efficace. La distribution par canalisation dont les eaux sont régulièrement analysées a remplacé la plupart des puits; peu profonds, familiaux facilement souillés par des déchets organiques. Les teneurs les plus anormales de nitrate proviennent de certains lacs des Etats-Unis qui sont le déversoir des eaux de culture intensive du maïs. Les teneurs anormales ne durent qu'une période de l'année.

Elles sont en grande partie attribuées aux quantités exagérées d'engrais azotés, utilisées par les cultivateurs, aux dires des producteurs d'engrais eux-mêmes. La proportion de nitrate provenant des engrais dans les eaux de ruissellement correspond à environ la moitié du nitrate total répandu sur ces sols. Les résultats donnant cette proportion sont d'ailleurs discutés.

Cet excès est évitable par le choix judicieux et réfléchi de l'engrais et aussi par le traitement des eaux de drainage des cultures intensives par des procédés actuellement industrialisés. La limitation où les nouvelles formes d'amendement permettraient aussi de diminuer considérablement les teneurs en nitrates de la plupart des légumes (épinards, carottes) mais non constamment, en raison des conditions clima-

tiques, de la nature même du sol, de l'emploi de certains pesticides (bactériostatiques inhibant théoriquement la putréfaction) et des caractéristiques variétales propres de la plante. La sélection de nouvelles variétés accumulant moins les ions nitriques ne pose pas de problèmes insurmontables.

Les conditions de récolte, de transport, de conservation, de préparation tant industrielle que familiale jouent par contre un rôle décisif dans les cas récents de méthémoglobinémie de l'enfant. Il s'agit, bien sûr, au départ d'aliments riches en nitrates mais c'est l'altération des légumes par l'effet soit d'une réductase de la plante, soit d'une pullulation bactérienne, qui permet la formation de nitrites toxiques. La surveillance attentive de la production, à la transformation et jusqu'à la consommation avec conseils hygiéniques aux mères de famille, s'organise surtout aux Etats-Unis. La présence de nitrate et plus encore de nitrite est soumise à des réglementations fixant la concentration maximum limite, non seulement des aliments pour enfants, mais aussi des saucisses, des jambons, des poissons etc..., bien que les cas de méthémoglobinémie décrits avec ceux-ci soient exceptionnels. Depuis longtemps déjà les industriels de l'alimentation étudient leurs fabrications afin d'éviter les excès en nitrites. Une méthode est envisagée pour détruire le nitrite restant en excès dans les viandes après leur préparation par un traitement biologique. Les "petits pots" pour enfants n'ont pas provoqué de méthémoglobinémie depuis 20 ans. A la parfaite asepsie de toutes les opérations, de préparation, on peut avec avantage ajouter l'acidification systématique ou l'adjonction d'acide ascorbique et de méthionine dans les aliments industriels.

La réduction des nitrates en nitrites dans le tube digestif, par les bactéries dénitrifiantes présentes antérieurement ou ingérées avec les aliments, très volontiers mise en cause, il y a quelques années demeure un risque certain, surtout chez l'enfant diarrhéique, même si l'on ignore par quel mécanisme exact elle favorise la méthémoglobinémie. C'est pourquoi on propose d'éviter les légumes riches en nitrates chez l'enfant de moins de trois mois et de moins de 1 an en cas de diarrhée.

-:-

C O N C L U S I O N S

Les méthémoglobinémies de l'enfant liées aux nitrates et nitrites sont dues essentiellement à l'ingestion d'eau et de légumes enrichis en produits toxiques.

La contamination de l'eau semble le plus souvent secondaire à l'emploi en excès d'engrais azotés, bien que ceci ne soit pas totalement démontré sur le plan statistique.

La contamination de différents légumes, en particulier carottes et épinards, provient aussi d'une utilisation abusive d'amendements azotés mais certains légumes peuvent accumuler des doses considérables de nitrates en l'absence de tout engrais azoté.

La réduction des nitrates en nitrites, véritable agent méthémoglobinisant, se produit sous l'influence d'une prolifération bactérienne ou d'une réductase de la plante.

La prophylaxie doit donc être assurée tout au long de la chaîne alimentaire :

- à la production agricole (meilleur emploi des engrais azotés)
- au cours de la préparation des aliments (que celle-ci ait lieu dans l'industrie ou à domicile)
- dans les modes d'utilisation de certains aliments (consommation

rapide et usage préférentiel de préparations industrielles bien contrôlées). Enfin les aliments connus pour leur richesse en nitrates doivent le plus possible être évités avant l'âge de trois mois.

-:-

Vu :

Le Président :

Signé : G. BLANCHER

Vu :

Le Doyen :

Signé : F. DELBARRE

Vu et permis d'imprimer :

Le Chancelier de l'Université

Signé : R. MALLET

REFERENCES

-:-

American Public Health Ass.- voir réf. 81.

1. AUSSANNAIRE M., JOLY C., POHLMANN A.
Méthémoglobinémie acquise du nourrisson par eau de canalisation.
Presse médicale, 28 sept. 1968, vol. 76, nº 36, pp.1723-26.

2. BOYER J.P.
Précis d'hygiène et de médecine préventive.
Editeur J.B. Baillière et fils, 4e éd.

3. CAILLE et HEROIN.
La méthémoglobinémie en cours des diarrhées du nourrisson.
Journées parisiennes de pédiatrie, 1969, Ed. médic. Flammarion.

4. CANTONI C. et all.
Modifications and quantity of nitrates, nitrites and ascorbic acid during the maturation of sausages and preserved meats by heat.
Arch. Vet. Ital., 1972, 23 (1), pp. 33-57.

5. CASTEL, THEAM, SALEUN.
A propos d'un cas de méthémoglobinémie du nourrisson.
Cahiers de médecine, 1973, 14 (5), pp. 361-65.

6. CELLARDIN F. et coll.
Application to the determination of nano-amounts of nitrite in water.
Annal. Chimica. Acta, janv. 74, 68 (1), pp. 61-71.

7. CHRETIEN J., CANCARET J., MERE C.
Evolution des teneurs en nitrate dans les eaux d'alimentation.
Ann. Agr., 1974, 25 (2-3), pp. 499-513.

8. CLARK D.G. et coll.
Role of inorganic nitrite in MetHb (formation after nitrate ester administration to the rat).
Br. J. Pharmacol. 48, 162, 8 mai 1973.

9. COMLY H.H.
Cyanosis in infants caused by nitrates in well water.
J.A.M.A. (J. of Amer. Med. Ass.), 129, pp. 112-116, 1945.

10. CORNBLATH M. et HARTMANN A.E.
Methemoglobinemia in young infants.
Journ. of Ped., 33, p. 421, 1948.

11. COSA M. et coll.
(Etude statistique des méthémoglobinémies alimentaires) de 1965 à 1967).
Kinderaerztliche Praxis, 37, mars 1969, pp. 97-103.

12. DELLAMONICA C.
La méthémoglobine et les méthémoglobinémies.
Lyon Pharmaceutique, 1972, 23 (6), pp. 745-53.

13. DONAHUE W.E.
Cyanosis in infants with nitrates in drinking water as a cause.
Pediatrics, 3, pp. 308-11, mars 1949.

14. DONEEN
Nitrogen, problem or not.
Chemical week, 23 avril 1966, pp. 23-24.

15. DUCHENNE.
Microbiologie générale.
Edité par la corporation des étudiants en pharmacie.

16. DUPEYRON J.P., MONIER J.P., FABIANI P.
Teneur en nitrite des aliments et méthémoglobinémies des enfants.
Ann. Biol. Clin. 1970, 28 (4), pp. 331-6.

17. FARKAS J.
Effect of nitrite on the microbiological stability of canned Vienna sausages preserved by mild heat treatment or combinations of heat and irradiation.
Acta Aliment., 1973, 2 (3), pp. 361-76.

FURIA Thomas, v. référence 82.

18. FERRANT M. et HELDERWEIRT G.
Méthémoglobinémie du jeune nourrisson par nitrates d'eau de puits.
Archives françaises de pédiatrie, 8, 1951, p. 255.

19. GLEASON G.I.
Nitric acid in rain water.
J. Chem. Educ., oct. 1973, 50 (10), pp. 718-19.

20. GOUNELLE DE PONTANEL et coll.
Problèmes hygiéniques posés par la carotte.
Bull. Acad. Nat. Méd., 1971, 135e année, nº 5-6, 2 et 9 février, pp. 82-99 (3e série)

21. GREENBERG.
Nitrite in the control of clostridium botulinum.
Proc. Meat Ind. Res. Conf. 1972, pp. 25-34.

22. GRUENER N., SHUVAL M.I., NACHMAN
Epidémiological and toxicological aspects of nitrates and nitrites in the environnement.
Devel. water qual. res. proc. Jerusalem inter-conf. water qual. pollut. res., 1969, pp. 89-100.
Amer. J. Pub. health, 1972, 62 (8), pp. 1045-52.

23. GRUENER N. et coll.
Methemoglobinemia induced by transplacental passage of nitrites in rats.
Bull. environ. Contam. Toxicol., 1973, 9 (1), pp. 44-8.

24. HAUK R.D. (Bartholomew W.V.).
Nitrogen 15 in research on aviability and crop use of nitrogen.
Science, 177, 1971, pp. 453-54.

25. HAWAT H. et ACHTZEN M.
Zur Athiologie einer Lebensmittelvere nach dem Gemüse einer Spinatzubereitung.
Zeit. Gest. Hyg. Grenzgeb., 1972, 19 (8), pp. 602-7.

26. HEISLER E. et coll.
Nitrate and nitrite content of market potatoes.
J. Agric. Food Chem., 1973, 21 (6), 970-3.

27. HENDERSON W., RASKIN N.
Cephalée provoquée par les "hot-dog" : sensibilité individuelle aux nitrites.
Lancet, 1972 (7788), pp. 1162-63.

28. HILL L. et coll.
Changes in residual nitrite in sausage and lunch on meat products during storage.
J. Milk Food Technol., 1973, 36 (10), pp. 515-19.

29. HOLSCHER P.M., NATZSCHKA J.
Methämoglobinämie bei jungen Säunglinge durch nitrithaltigen Spinat.
Deutsch Med. Wochenschr., 89, pp. 1751-54, 1964.

30. HUSTAD G. et coll.
Effect of sodium nitrite and sodium nitrate on botulinal toxin production and nitrosamine formation in wieners.
Applic. Microbiol., 1973 (1), pp. 22-6 (saucisses).

31. JANE F.
Experimental study on methemoglobinemia formation in white rats.
Wien Tieraerztl. Monatschrifft. 59, pp. 321-3, octobre 1972 (résumé en anglais).

32. JARDIN Cl.
Un problème de diététique infantile ; la présence de nitrate dans les épinards.
Ann. Hyg. L. Fr., Med. et Nutr., 1971, t. 7, nº 2.

33. JOHNS M.W. et LAWRENCE C.R.
Nitrate-rich groundwater in Australia : a possible cause of methaemoglobinaemia in infant
The medical J. of Australia, 1973, 2 (17 novembre), pp. 925-27.

34. KEATING J.P., LELL M.E., STRAUSS A.W., ZARKOWSKY H., SMITH G.E.
Infantile methemoglobinemia caused by carrot juice.
New England J. Med. (USA), 1973, 288, nº 16, pp. 824-26.

35. KEMP J.D. et coll.
Cured ham properties as affected by Fresh ham quality.
J. Animal Science, 1973, 37 (66), pp. 1302-4.

36. KIRK-OTHMER.
Encyclopedia of chemical technology.
Fertilizers, 1971, 2e éd., suppl. p. 339.

37. KNOTECK Z. et SCHMIDT P.
Pathogenosis, incidences and possibilities of preventing alimentary nitrate methemoglobinemia.in infants
Pediatrics, 1964, 34, nº 1, July, pp. 78-83.

38. KOHL D.H., SHEARER G.B.
Fertilizer nitrogen ; contribution to nitrate in surface water in a cornbelt watershed.

39. LAMAGNERE, MERCIER, LAUGIER, GRENIER, DESBUQUOIS.
Les méthémoglobinémies acquises du nourrisson et de l'enfant.
Semaine des Hôpitaux, Paris, Ann. de Péd., 1972, 48, nº 6/2, 2 fév. pp. 391-107.

40. L'HIRONDEL J., QUIHARD J., MOREL C. et coll.
Une cause nouvelle de méthémoglobinémie du nourrisson : la soupe de carottes.
Ann. Pédiat. (Paris), 18, pp. 625-32, 1971.

41. LOSODA M., RAMIREZ J.M. et coll.
Light and dark reduction of nitrate in a reconstitued chloroplast system.
Biochem. Biophys. Acta, 109, 1965 (86-96).

42. MANN L.D., FOCHT D.D., JOSEPH H.A., STOLZY L.H.
Increased denitrification in soil by additions of sulfur as an energy source.
J. Environ. Quality, vol. 1, nº 3, 1972, pp. 329-32.

43. MITSUI TOATSU (engrais enrobés)
Brevet français, 2; 160-273. Priorité japonaise 17.11.1971.

44. MIYAZAKI AKIRA et coll.
Individual differences in methemoglobin formation caused by dietetary nitrate intake in wethers.
Nippon Chikusan Gakkai, HO, 1974, 45 (3), pp. 149-56.

45. NICOLAS R.A.
Critical evaluation of the AOAC method of analysis for nitrite in meat.
J. Ass. OAF, Anal. Chem., 1973, 56 (4), pp. 922-5.

46. PAYNE W.J.
Reduction des oxydes d'azote par les micro-organismes.
Bacteriological reviews, déc. 1973, pp. 437-38.

47. PANKOW D., PONSOLD W.
Taux de glucose sanguin après injection de nitrite de Na.
Internation. Arch. Arbeits Med., 1973, 31 (3), pp. 237-41.

48. RAUSA G., ZABEO L.
Importance of nitrate and nitrite contents in fresh or frozen spinach in the hygien of food.
Ig. Mod., 1972, 65 (11-12), pp. 584-612.

49. RAVEH Ariella.
The adaptation of the nitrate electrode for soil and plant analysis.
Soil science, nov. 1973, 116 (nº 5), pp. 388-89.

50. REID R.L., JUNG G.A., POST A.J., HORN F.P. et coll.
Effects of nitrogen and micro-element fertilization on quality of pasture ...
J. of animal science, vol. 38 (nº 1), 1974, pp. 163-71.

51. RICHARD J.
La méthémoglobinémie par eau de puits.
La revue du praticien, 1953, 3, p. 1963.

52 RICHARD J.
Les méthémoglobinémies.
Revue du Prat., 1968, 18 (30), 21 nov., pp. 4463-76.

53. RIDDER W.E., OEHME F.W., KELLEY D.C.
Nitrates in Kansas groundwaters as related to animal and human health.
Toxicology, 1974 (2), pp. 397-405.

54. RONDEST J.
Le procès des nitrates.
La Recherche, vol. 3 (nº 29), Décembre 1972, pp. 1094-95.

55. ROWLEY Guy A.
Carrots from the Everglades.
New England J. Med., July, 1973, vol. 289, nº 2, p.109.

56. SARLES W.B., FRAZIER W., Mc CARTER J.R.
(Décomposition des protéines par les micro-organismes et circonstances favorisantes).
Bacteriology (Rev. ed.) Madison, Wis. : Kramer Business Service, 1940.

57. SCHUPHAN W.
Der Nitritgehalt von Spinat (Spinacia oleracea L.) im beziehung zur Methämoglobinämie der Säuglinge.
Z. Ernachrungswiss, 5, pp. 207-209, 1965.

58. SELENKA F.
Entstehung und Abbau von nitrit in nitrithaltingen Säuglingsnahrung).
Arch. Hyg. Bakteriol., 154, pp. 336-48, 1970.

59. SEYNAVE.
Etude expérimentale et clinique de la méthémoglobinémie.
Thèse méd. vétérinaire. Alfort, 1953, nº 6.

60. SHEARER L.A. et coll.
Methemoglobinemia in area with high nitrate water supply.
Amer. J. Pub. Health (A.HA), 1972, 62 (9), pp. 1174-80.

61. SHIMAHARA et coll.
Action des nitrites sur les graisses et les huiles insaturées.
Hakko Kagaku Zasshi, 1973, 51, (7), p. 489-95.

62. SIGNORET N.
Méthémoglobinémie par la soupe de carottes.
Thèse de médecine, Faculté de Caen, 1970, nº 21.

63. SIMON Clauss.
Pathogenese und Möglichkeiten zur prophylaxe der durch Nitrit verursachten methämoglobinämie.
Zeit. Kinderheil., 1964, 91, 124.

64. SIMON.
Uber den Gehalt an Nitrat, Nitrit und Eisen von Spinat und anderen Gemüsearten und die damit verbundene Gefahr einer Methämoglobinämie der Sauglinge.
Arch. Kinderheilk., 175, pp. 42-54, 1966.

Intoxication par les nitrites après ingestion d'épinards.
Arch. Fr. Péd., 1966, 23, pp. 231-38.

65. SINIOS A.
Methämoglobinämie durch nitrithaltigen Spinat.
München. Med. Wochenschr., 106, pp. 1180-82, 1964.

66. SINHA D.P., SLEIGHT S.D. et coll.
Effects of Na NO2 on pregnant sows.
Toxicol. Applic. Pharmacol., 1971, 18 (2), pp. 340-4.
J. Amer. Vet. Med. Ass., 1972, 161 (7), pp. 819-23.

67. STOEWSAND G.S., ANDERSON J.L. et LEE C.Y.
Nitrate induced MetHb. in guinea Pigs. (Methenoglobinémie expérimentale du cobbaye, par ingestion de nitrate).
The J. of Nutrition, mars 1973, vol. 103 (nº 3), pp. 419-24.

68. STOSSEL T.P., et JENNINGS A.B.et coll.
Failure of methylene blue to produce methemoglobin methemoglobin in vivo.
Amer. J. Clin. Path., 1966, 45, 600.

69. SZPONAR L. et coll.
Methemoglobin level, in the population of villages surrounding an artificial nitrogen plant and exposed to air pollution.
Pol. Tyg. lek., 28, pp. 9-10, 1er janv. 1973 (en polonais, résumé en anglais).

70. TEERINK, PAFFORD, DELALCO.
Possibility of reducing nitrogen in drainage water by on farm pratices.
US. Nat. Tech. inform. serv. PB Rep., 1972, nº 221482/3

71. TOROK J.
Pollution of drinking and methemoglobin.
Prot. Vitne, 1971, 16 (6), 253-4.

72. VAUGHAN W.
Nitrogen fertilization and farming methodes compost.
Sci. 1973, 14 (4), July-August 73, pp. 26-31.

73. VED PARKASH.
Current status of nitrate reduction in higher plants and nitrate toxicities and pollution.
J. Sci. Ind. Res., 1973, vol. 32, nº 2.

74. VERGER P., GUILLARD J.M., SANDLER B., MERLIO M.
Methemoglobinémie acquise du nouveau-né par eau de canalisation urbaine.
J. Med. Bordeaux, 1966, 143, 1257.
Arch. Fr. Péd., 1966, 23, 1099.

75. VERGER P., et MULLON M.
Méthémoglobinémie par absorption d'eau de pluie.
Arch. Fr. de Pédiatrie, 1960, 17, 122.

76. VIGIL et coll.
Nitrates in municipal waters supply cause methemoglobinemia in infants.
Pub. Health Reports (Washington) 1965, 80, nº 12 (Décembre), p. 1119.

77. VILLEY R., SIGNORET C.
Méthémoglobinémie d'origine alimentaire au cours d'une diarrhée du nourrisson.
J. Méd. Caen 1968, 3 (2), pp. 89-92.

78. WALTON GRAHAM.
Survey of literature relating to infant methemoglobinemia due to nitrate contaminated water.
Am. J. Pub. Health, August 1951, vol. 41, pp. 986-96.

79. WOLK Peter C.
Physiology and cytological chemistry of blue-green Algue
Bacteriological reviews, vol. 37, nº 1, mars 1973,
pp. 32-101.

80. ZEITOUNE SMADJA.
Les méthémoglobinémies (à propos d'un cas)
Thèse méd. Paris, VI, Faculté St Antoine, 1971, nº 43.

81. Americ. Public. Health. Ass. (APHA), 1965 (10019),
p. 395-8.

82. FURIA Thomas.
Antimicrobial food additives : Nitrites and nitrates.
Handbook of food additives.
Ed. C.R.C. Press, 1972, 2e éd.

83. Infant methemoglobinemia : the role of dietary nitrate
Pediatrics, 46 : 475-477, 1970.

84. JOLY J.B., HUAULT C. FABIANI P., THIEFFRY S.
Traitement de six cas de méthémoglobinémie toxique de l'enfant.
Bull. Mém. Soc. Méd. Hôp. Paris, 1966, 117, 1177.

85. MIKKEDO V.P. et col.
Blood methemoglobin in late toxemia of pregnancy.
Pediat. Akush. Ginek. (3), pp. 37-9. mai -juin 69 (Ukr).

86. PETUKHOV N. et coll.
Nitrate water in children and adults.
Dif. Sanit., 37, pp. 14-8, mars 72 (russe).

87. Seine et Normandie.
Les Pesticides. 1973, n° 18.

-:-

S E R M E N T

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses !

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

-:-